ORSAY
Série A
N° d'Ordre
157

Inscrit aux archives originales du
Centre de documentation du
CNRS sous le N°
A. O.

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ
SPÉCIALITÉ : SCIENCES PHYSIQUES (CHIMIE)

PAR

Bernard Félix LAUBHOUET

Sujet de la Thèse :

Quelques aspects de la réaction de Köenigs Knorr dans la synthèse de disaccharides

SOUTENUE LE 27 SEPTEMBRE 1973, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. E. LEDERER : PRÉSIDENT

S. DAVID
L. SZABO } EXAMINATEURS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542715_0024

ORSAY
Série A
N° d'Ordre
157

Inscrit aux archives originales du
Centre de documentation du
CNRS sous le N°
A. O.

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ
SPÉCIALITÉ : SCIENCES PHYSIQUES (CHIMIE)

PAR

Bernard Félix LAUBHOUET

Sujet de la Thèse :

Quelques aspects de la réaction de Köenigs Knorr dans la synthèse de disaccharides

SOUTENUE LE 27 SEPTEMBRE 1973, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. E. LEDERER : PRÉSIDENT

S. DAVID
L. SZABO } EXAMINATEURS

ORSAY
Série A
N° d'Ordre
157

Inscrit aux archives originales du
Centre de documentation du
CNRS sous le N°
A.O.

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

SPÉCIALITÉ : SCIENCES-PHYSIQUES (CHIMIE)

PAR

Bernard Félix LAUBENGUET

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Sujet de la Thèse :

Quelques aspects de la réaction de Kœnigs Knorr dans la synthèse de disaccharides

SOUTENUE LE 27 SEPTEMBRE 1973 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. E. LEDERER : Président

S. DAVID
L. SZABO

A notre vénéré Président,

Son Excellence Monsieur Félix HOUPHOUET-BOIGNY

Hommage filial pour sa sollicitude infinie.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé dans l'enceinte de la Faculté des Sciences d'Orsay, au Laboratoire de Chimie des Composés Biologiques, sous la direction de Monsieur le Professeur S. DAVID dont les conseils judicieux et l'éclatante sagacité m'ont permis de mener à bien cette longue recherche. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de mes vifs remerciements.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Professeur E. LEDERER qui m'a suivi depuis longtemps et m'a aidé à réaliser ce rève, et qui me fait l'honneur de présider le jury.

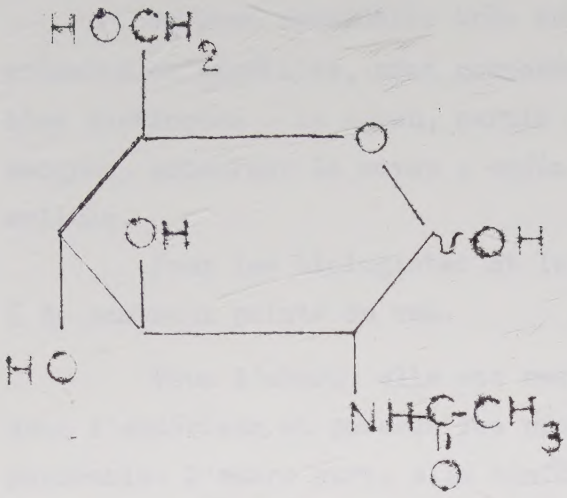
Je tiens également à remercier M. SZABO qui a jugé mon travail et a bien voulu accepter de faire partie du jury de cette thèse.

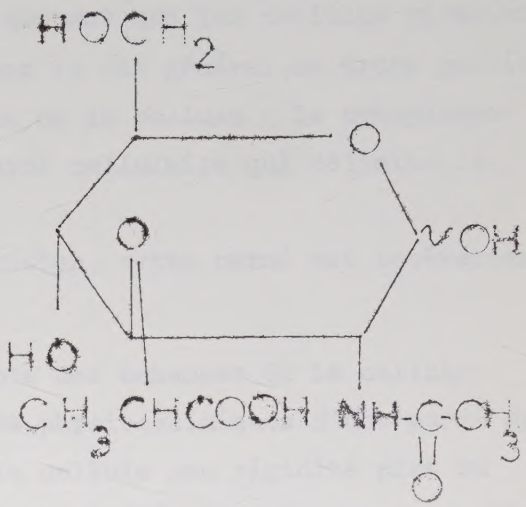
Enfin, je remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail et , en particulier, mes amis de laboratoire.

Il n'est pas difficile de monter mais en montant rester toujours soi.

Michelet
(Le Peuple)

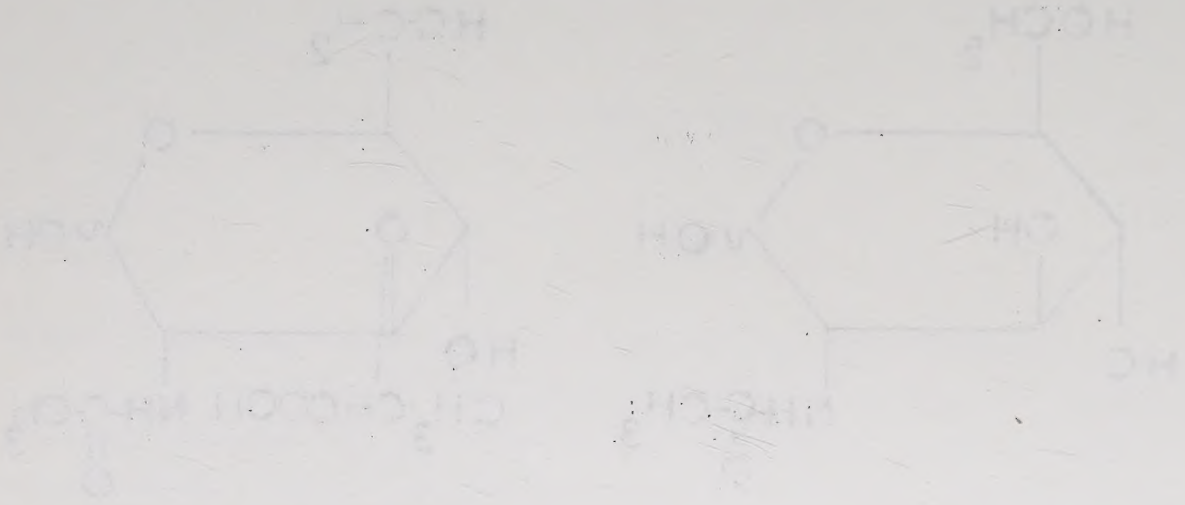
FORMULES de BASE





PRINCIPALES ABREVIATIONS UTILISEES

P.M.	Poids moléculaire
C.	Concentration
m.M.	Millimole
P.F.	Point de fusion
U.V.	Ultra-violet
R.M.N.	Résonance magnétique nucléaire
δ	Déplacement chimique
p.p.m.	Partie pour million
Hz	Herz (cycle par seconde)
c.c.m.	Chromatographie sur couche mince
DMF	Diméthylformamide
THF	Tétrahydrofuranne
P.E.	Point d'ébullition



I N T R O D U C T I O N

On peut considérer très schématiquement que les cellules vivantes, animales ou végétales, sont composées, dans le cas général,de trois parties bien distinctes : le noyau, partie vivante de la cellule ; le cytoplasme amorphe, entourant le noyau ; enfin la paroi cellulaire qui délimite la cellule.

Pour les biologistes et les chimistes, cette paroi est intéressante à de nombreux points de vue.

Tour d'abord, elle est responsable des échanges de la cellule avec l'extérieur et possède les propriétés physicochimiques d'une paroi semi-perméable. D'autre part, elle confère à la cellule une rigidité plus ou moins grande qui donne à celle-ci son individualité. Dans le cas des cellules végétales, cette rigidité est très grande, et la cellule ne se déforme presque pas. Dans le cas des animaux, la paroi, tout en étant souple, demeure très résistante à l'échelle microscopique. Ceci est dû à l'existence dans ces parois de hauts polymères mixtes composés de polysaccharides et de protéines reliés entre eux par liaison covalente, formant ainsi des structures très ramifiées donc très solides.

Cummins et Harus[1], ainsi que Salton[2] lors de la dégradation enzymatique des parois cellulaires de nombreuses bactéries gram-positives, ont obtenu à côté de diverses protéines, de nombreux oligosaccharides[3]. Ces oligosaccharides se sont révélés être composés principalement de 2-acétamido-2-désoxy-D glucose et de 2-acétamido-2-désoxy-3-O D (1 carboxyéthyl)-D-glucose dans le rapport 1-1. Par hydrolyse partielle, ces polysaccharides ont également pu être décomposés en unités plus petites où, à côté d'acide N-acétyl muramique, de N-acétyl glucosamine principalement et d'autres sucres aminés en quantité moindre, il a été trouvé divers disaccharides.

Sur la base de ces deux renseignements :

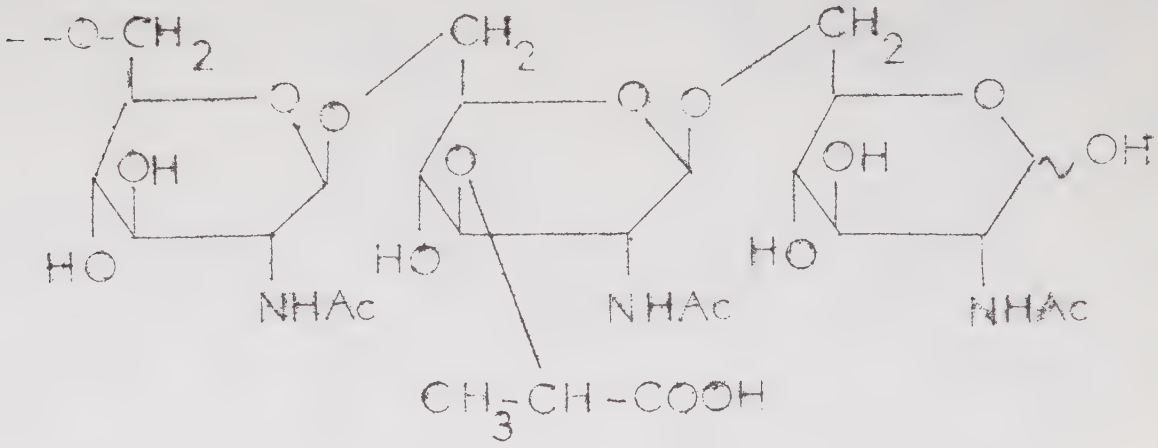
a. proportion à peu près 1-1 d'acide N-acétyl muramique et de N-acétyl glucosamine ;

b. présence de disaccharides caractérisés comme composés d'acide N-acétyl muramique et de N-acétyl glucosamine ;

les biochimistes ont pu proposer un premier schéma représentatif de la structure des parois cellulaires étudiées : de longues chaines protéiniques

liées par liaison de type amide entre les NH_2 d'acides aminés et le groupement carboxyle de l'acide muramique à de longs polysaccharides. La structure ainsi obtenue, dite "Cross-linked" devant présenter, de par le nombre de ses ramifications et de ses liaisons, une grande rigidité.

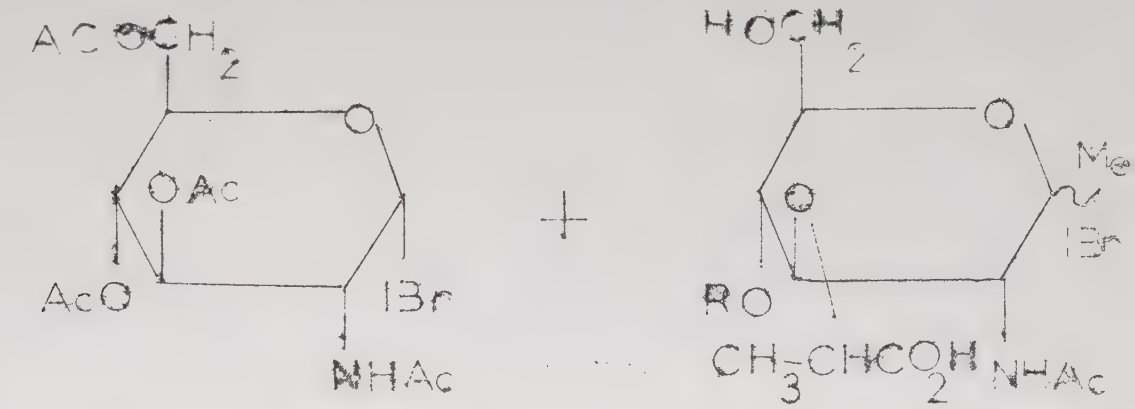
Ghuysen et Salton[4] en 1960, Ghuysen[5] en 1961, ont travaillé à établir plus précisément la structure de polysaccharide dont la présence dans certaines des parois cellulaires étudiées avait été mise précédemment en évidence. Sur la base d'oxydations périodiques suivies de réductions par $NaBH_4$, et de l'action d'enzymes, un premier modèle était proposé : une alternance régulière de N-acétyl glucosamine et d'acide N-acétyl muramique avec liaison β 1-6.

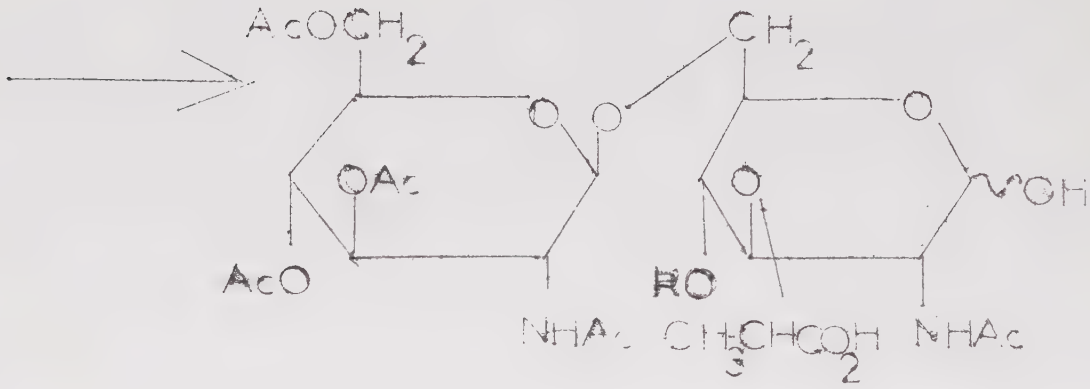


Les chimistes se sont alors penchés sur le problème en vue de vérifier les hypothèses avancées par Ghuysen et Salton. Le travail prépondérant dans ce domaine a été effectué par Jeanloz et ses collaborateurs, Jeanloz, Sharon et Flowers[6] en 1965 ; Sharon et son équipe[7] en 1966 émettaient une nouvelle hypothèse suivant laquelle les liaisons entre N-acétyl glucosamine et acide N-acétyl muramique n'étaient pas nécessairement 1 → 6, mais pouvaient être aussi 1 → 4.

En un premier temps, ils réussissaient à isoler le disaccharide principal obtenu par dégradation enzymatique en acide des parois cellulaires des bactéries. Ce disaccharide était composé d'une unité d'acide N-acétyl

muramique et d'une unité de N-acétyl glucosamine. De plus, ils parvenaient à obtenir, par méthylation de la fonction acide et acétylation un méthyl ester heptaacétylé [6,7]. En même temps, ils effectuaient la condensation du bromure de 2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2 désoxy-α-D glucopyranosyle avec les méthyls α en benzyl β glycosides de l'acide N-acétyl muramique protégé sauf en C-6

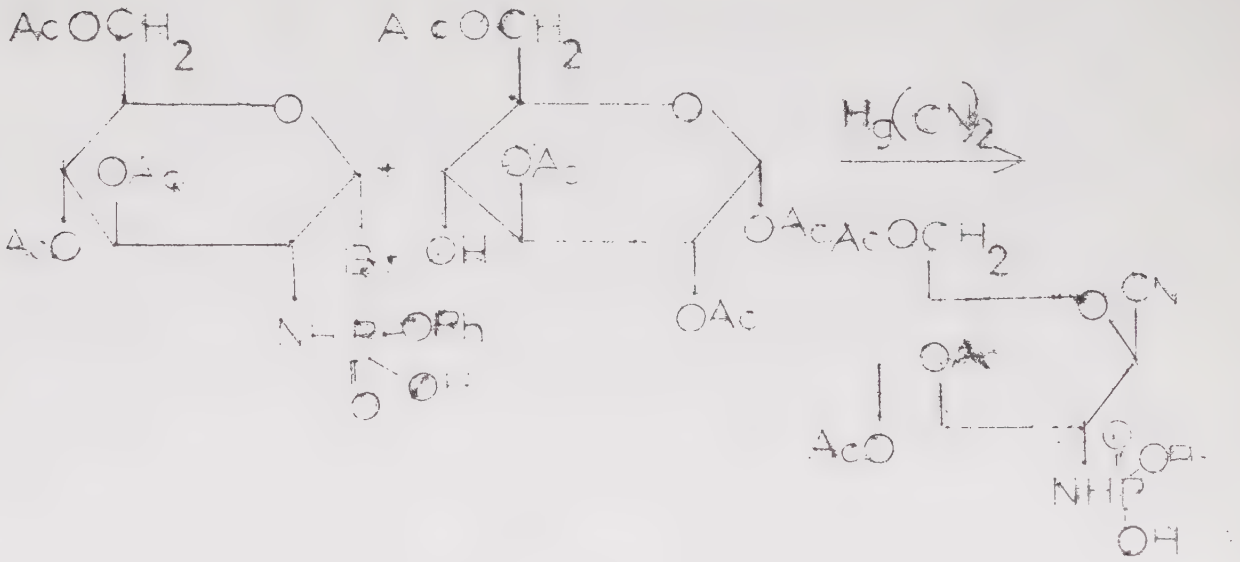




Le disaccharide ainsi obtenu après hydrogénolyse et hydrolyse des groupements protecteurs, se révèlait différent du disaccharide prépondérant provenant de la dégradation des parois cellulaires et après méthylation de l'acide. De même, la comparaison du dérivé peracétylé du disaccharide préparé par synthèse chimique avec celui correspondant au produit naturel était négatif. Ainsi l'hypothèse émise par Salton et Ghuysen se révèlait être fausse. Il restait donc à vérifier la structure proposée par Jeanloz et ses collaborateurs, à savoir : un polysaccharide composé d'une alternance régulière de N-acétyl glucosamine et d'acide N-acétyl muramique liés en 1 → 4.

A ce niveau, il se pose un problème très important. La méthode la plus généralement employée en synthèse de disaccharides est celle de Koenigs Knorr impliquant la condensation d'un halogénose sur l'hydroxyle libre d'un sucre convenablement protégé, en présence d'un catalyseur basique. Or, il a été démontré[10,11] que le groupement hydroxyle dans le cas des 2-acétamido-2-désoxy glucopyranosides ne réagissait pas avec les halogénoses, et qu'il était ainsi impossible d'obtenir de disaccharides par cette méthode.

La réaction a été également tentée[12] dans le cas de sucres non aminés. On a en effet assayé de condenser le bromure de 2-diphénylphosphonyl amino 3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-α-D glucopyranosyle sur le 1,2,3,6-tétra-O-acétyl-β-D glucopyranose, et ce dans les conditions normales d'une Koenigs Knorr : benzène sec, en présence de $Hg(CN)_2$ comme catalyseur



On n'observait pas dans ce cas, la formation de disaccharide, l'halogénose réagissait avec le cyanure marcurique pour donner le dérivé 1-cyano. Il est remarquable que cette difficulté ne soit rencontrée que lors de la synthèse de disaccharides 1 → 4, les disaccharides 1 → 6 et 1 → 3 [11] pouvant assez facilement être préparés. Il n'y a pas encore d'explication définitive à ce phénomène.

Notre travail consistait donc en partie à essayer de tourner cette difficulté pour préparer, en vue de la comparer à l'échantillon naturel, la 2-acétamido-2-désoxy-D glucopyranosyl 1 → 4 2-acétamido-3-O(D-1 carboxy-éthyl)2-désoxy D-glucose.

Nous avons divisé ce travail en trois parties :

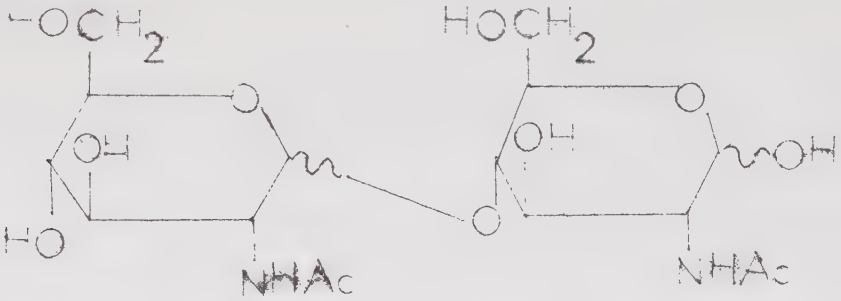
- préparation d'un dérivé de l'acide N-acétyl muramique possédant un groupement hydroxyle libre en C-4, utilisable en synthèse de Koënigs Knorr.
- choix d'un halogénose dérivé de la glucosamine ;
- quelques synthèses dues à différents acétals

PREMIERE PARTIE

Chaine droite dérivée de l'acide N-acétyl muramique

L'encombrement stérique responsable de la non réactivité des hydroxyles en C-4 des pyranoses est dû, d'une part à la gêne apportée par les groupements protecteurs environnants et, d'autre part au fait que le cycle hémiacétal du sucre impose une structure rigide dans l'hydroxyle n'est pas accessible.

Nous nous sommes donc intéressés aux travaux de Heyns, Propps, Harrisson et Paulsen[12] qui, en 1967 se sont trouvés confrontés à des problèmes analogues aux nôtres : désirant vérifier la structure du disaccharide "chitobiose", composé de deux unités de N-acétyl glucosamine liés en 1 → 4, ils voulaient en synthétiser par voie chimique les deux anomères



Tenant pour acquis que la synthèse n'était pas possible avec un pyranose, ils ont eu l'idée de préparer une chaine droite dérivée de la glucosamine, ce qui n'avait jamais été fait.

Pour cela les étapes suivantes ont été nécessaires :

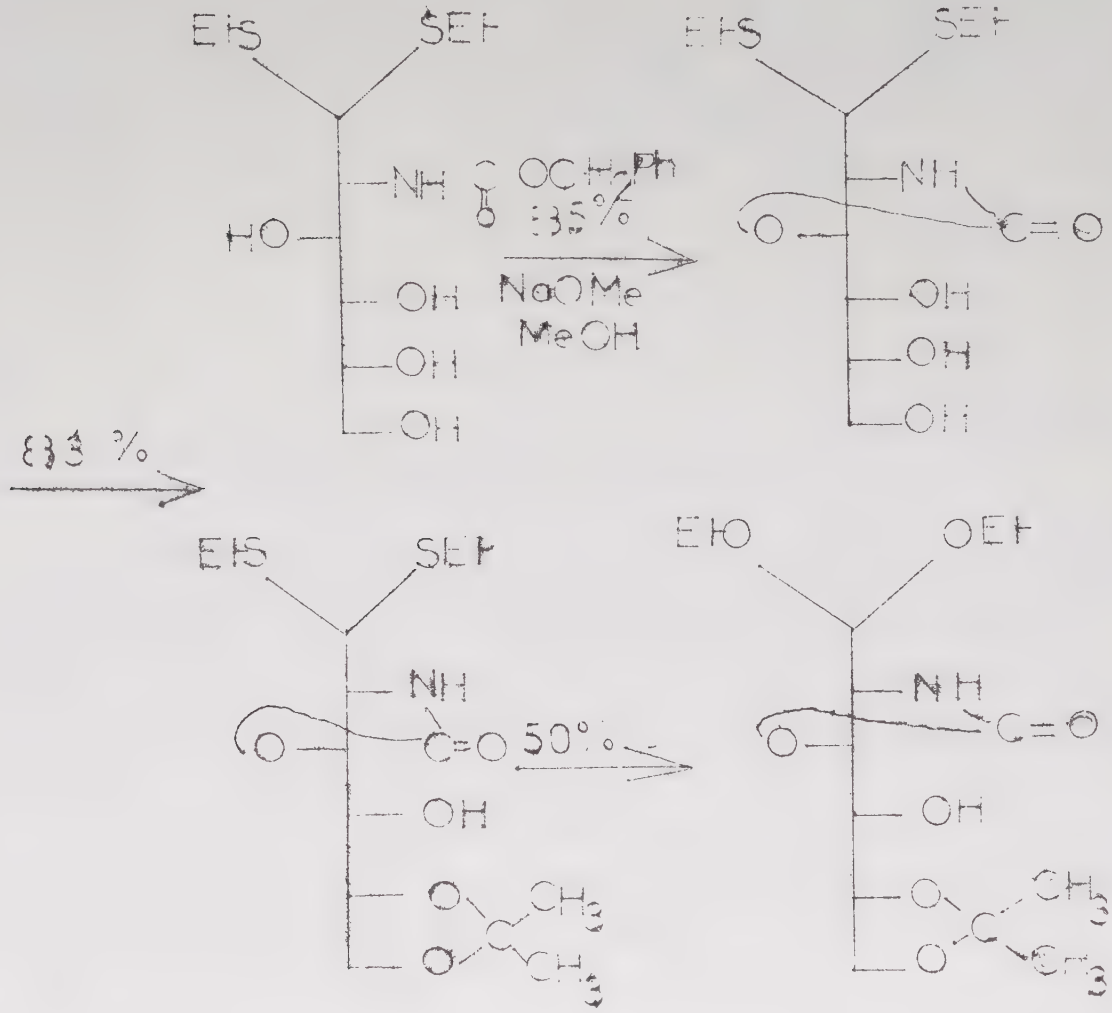
1°) Préparation d'un dérivé N-acétylé à groupement protecteur transformable ;

2°) Ouverture du cycle par l'éthanethiol ;

3°) Formation d'un carbonate entre le groupement amino et le OH en C-3.

4°) Protection des OH en C-5 et C-6 par un isopropylidène qui se fait préférentiellement en cette position ;

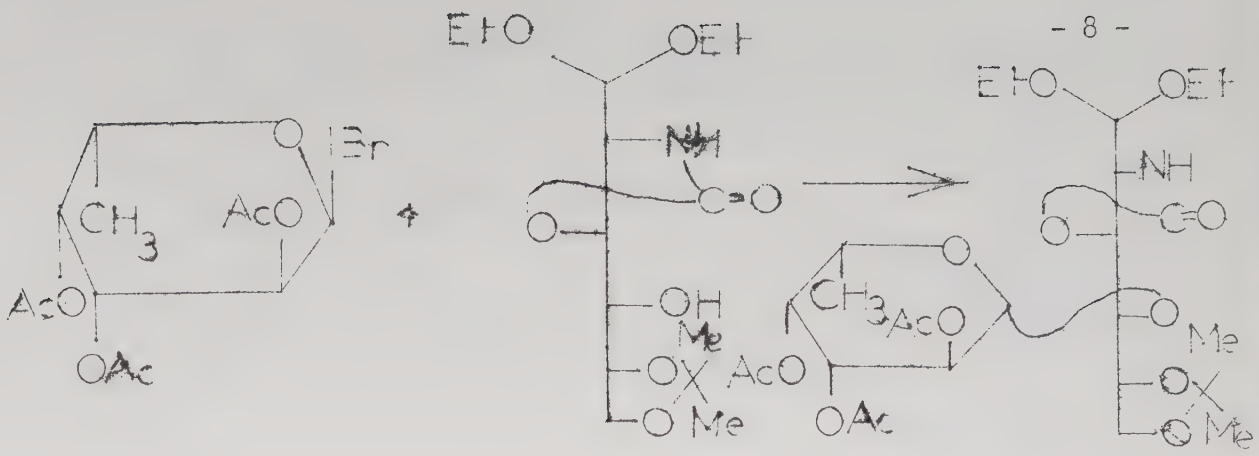
5°) Désulfuration par $HgCl_2$, HgO, $CdCO_3$ dans l'éthanol.



Le dérivé ainsi obtenu ne présente aucun des inconvénients existant dans un pyranose : plus de rigidité de la chaine et groupements protecteurs peu encombrants.

La condensation de cette chaine droite avec l'halogénose A (p.4) dans le benzène et en présence de cyanure mercurique, donnait 35% de disaccharide α et 10% de l'anomère β qui était identifié comme étant le "chitobiose"authentique.

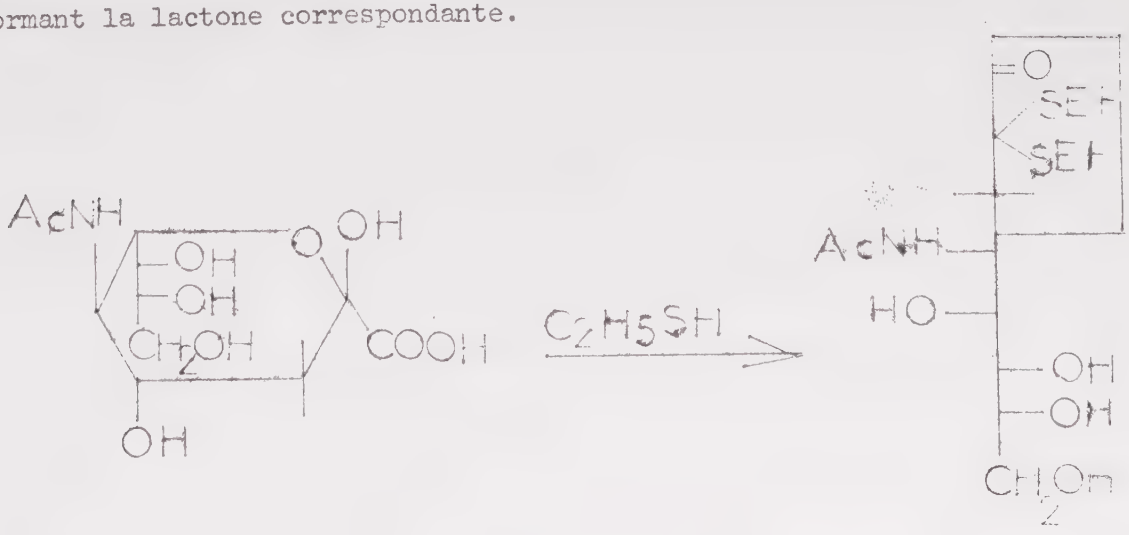
Cette méthode a été également appliquée par la suite par Shabon et Jeanloz[10] dans la synthèse d'un autre disaccharide 1 → 4, l'halogénose utilisé était le bromure de 2,3,4-tri-O-acétyl fucopyranosyle.



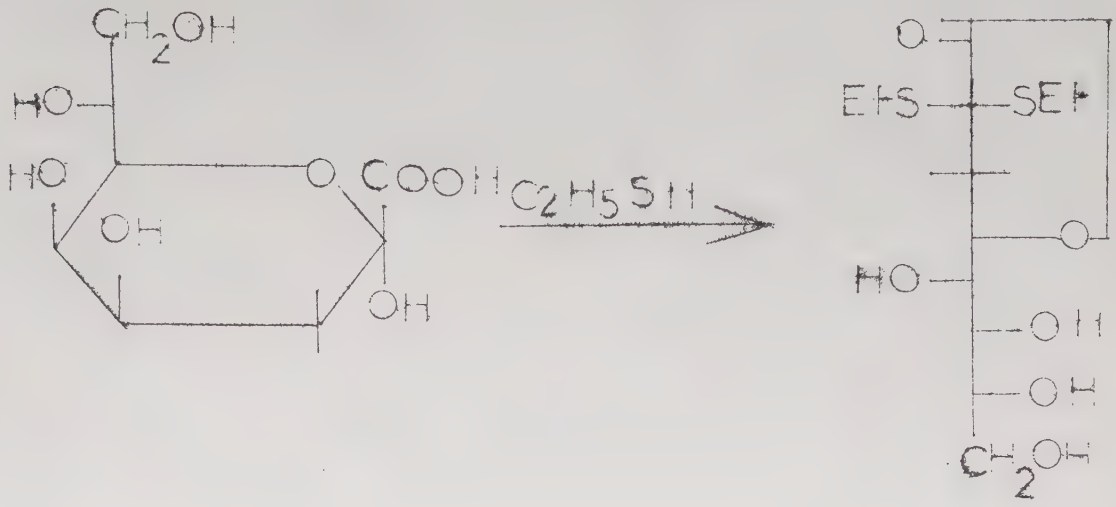
Les rendements obtenus dans ce cas étaient voisins de ceux obtenus par l'équipe de Paulsen, soit 32% de disaccharide α.

Cette voie n'apparait pas très intéressante à priori ; le rendement en chitobiose authentique, obtenu par Paulsen, était faible ; ceci nous aurait conduits à travailler avec de grosses quantités de produits de départ. Nous avons donc choisi de préparer une chaine droite dérivée de l'acide N-acétyl muramique se rapprochant de celle utilisée par l'équipe Paulsen.

Nous avons eu connaissance des travaux de Kuhn et Porossmer d'une part, en 1957 et 1959[13,14] qui ont préparé des dérivés en chaine droite de l'acide N-acétyl neuraminique. Ces composés se préparant facilement en formant la lactone correspondante.



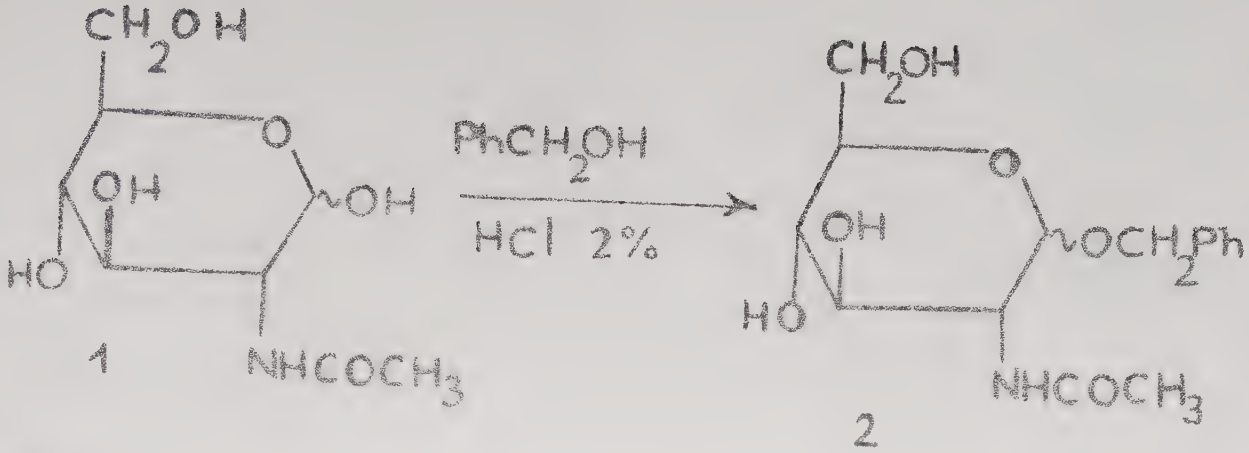
D'autre part, Dimitriev et Backinowsky en 1970[15] ont préparé une chaine droite d'un sucre , là encore porteur d'une fonction acide.



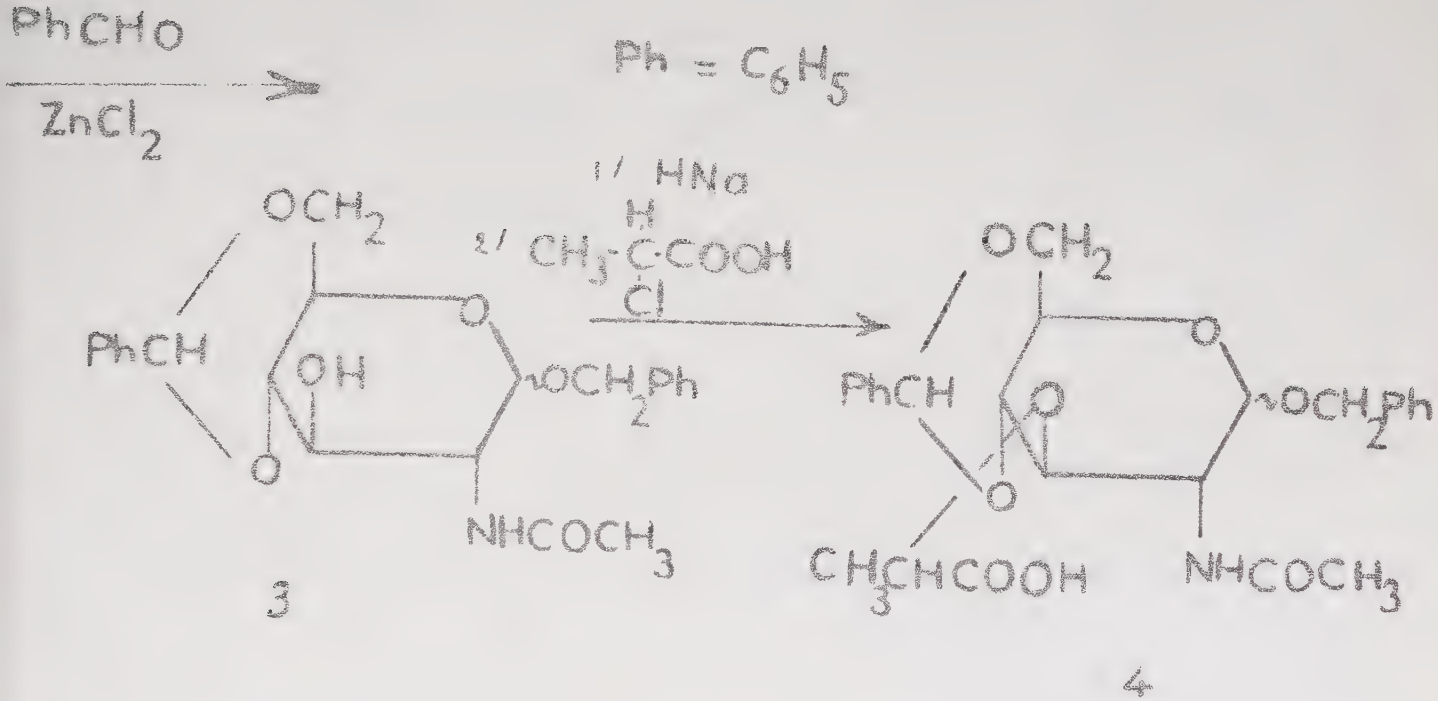
Le rendement était moins bon car il se formait un produit parasite important dû à l'élimination d'une molécule de EtSH entre les carbones 2 et 3 du sucre.

Ilressortait de tout cela que rien ne s'opposait à la préparation d'une chaine droite dérivée de l'acide N-acétyl muramique, l'ouverture du cycle par un thiol n'entrainant pas de réaction parasite.

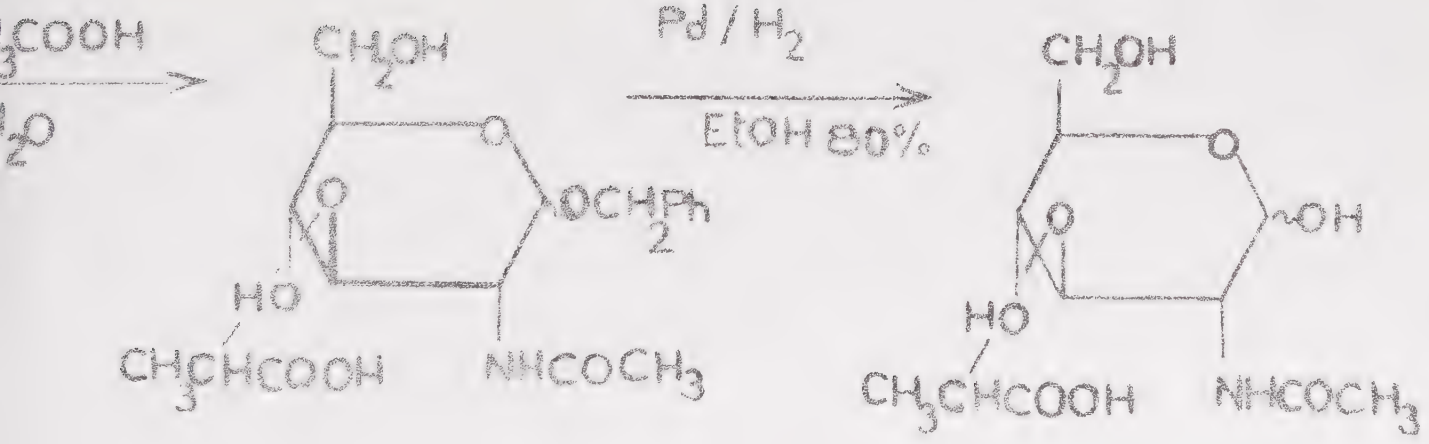
Nous avons donc été conduits par cette première partie, à nous tracer le schéma réactionnel suivant


CH2OH
O
OH
OH
HO
NHCOCH3
PhCH2OH
HCl 2%
CH2OH
O
OH
OCH2Ph
HO
NHCOCH3

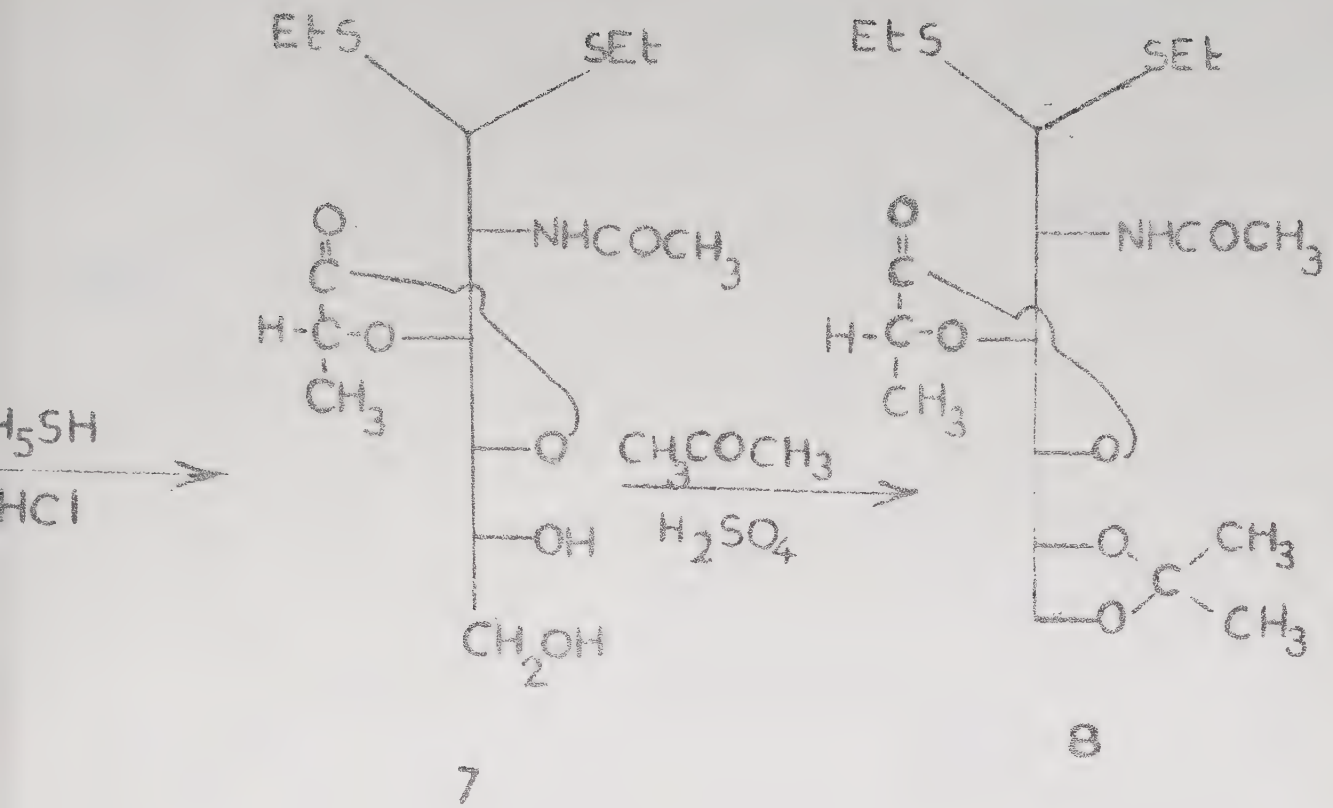
1 2


PhCHO
ZnCl2
Ph = C6H5
1/ HNa
2/ CH3-C(H)(Cl)-COOH
OCH2
PhCH
O
OH
OCH2Ph
NHCOCH3
CH3CHCOOH

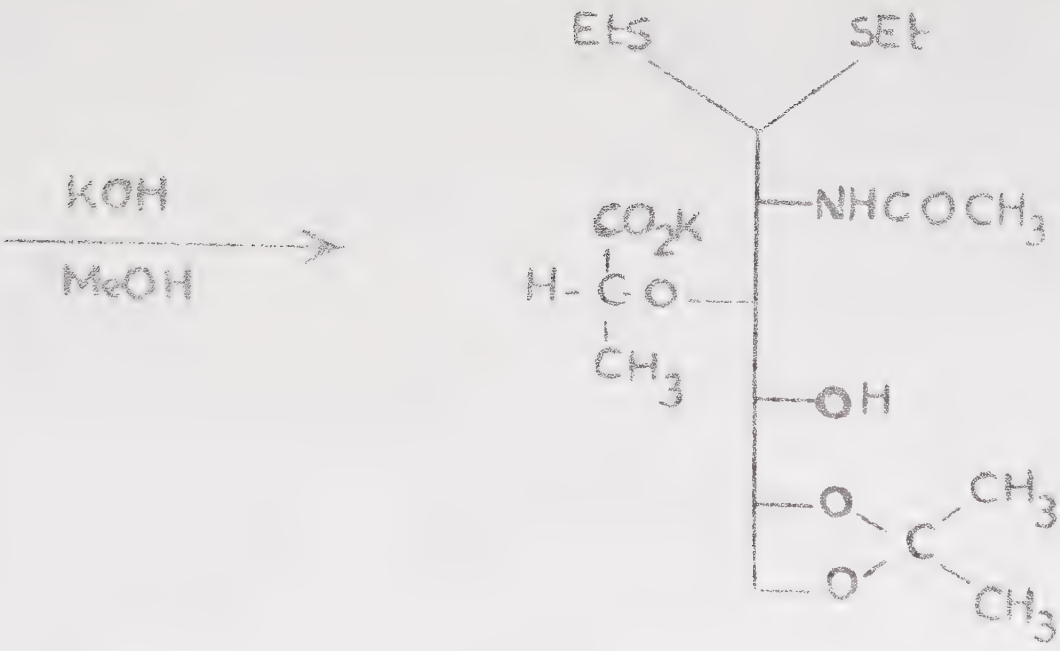
3 4


COOH
H2O
CH2OH
O
OCH2Ph
HO
CH3CHCOOH
NHCOCH3
Pd/H2
EtOH 80%
CH2OH
O
OH
HO
CH3CHCOOH
NHCOCH3

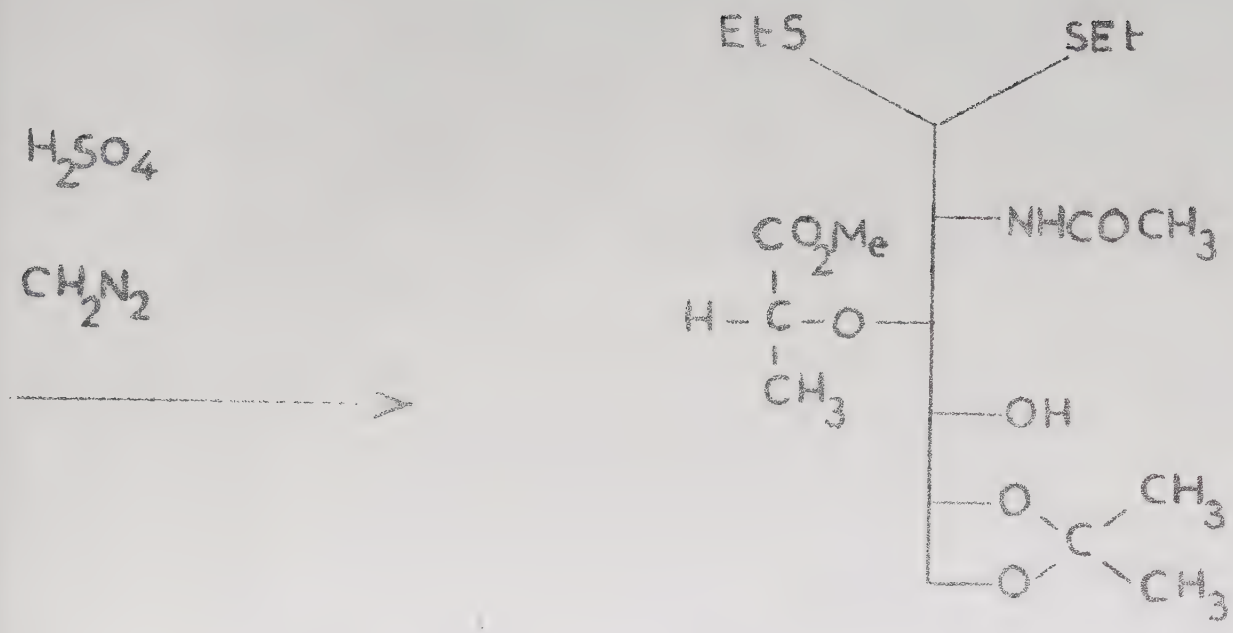
5 6


EtS
SEt
NHCOCH3
O
C
H-C-O
CH3
O
OH
CH2OH
H5SH
HCl
CH3COCH3
H2SO4
O
CH3
C
CH3

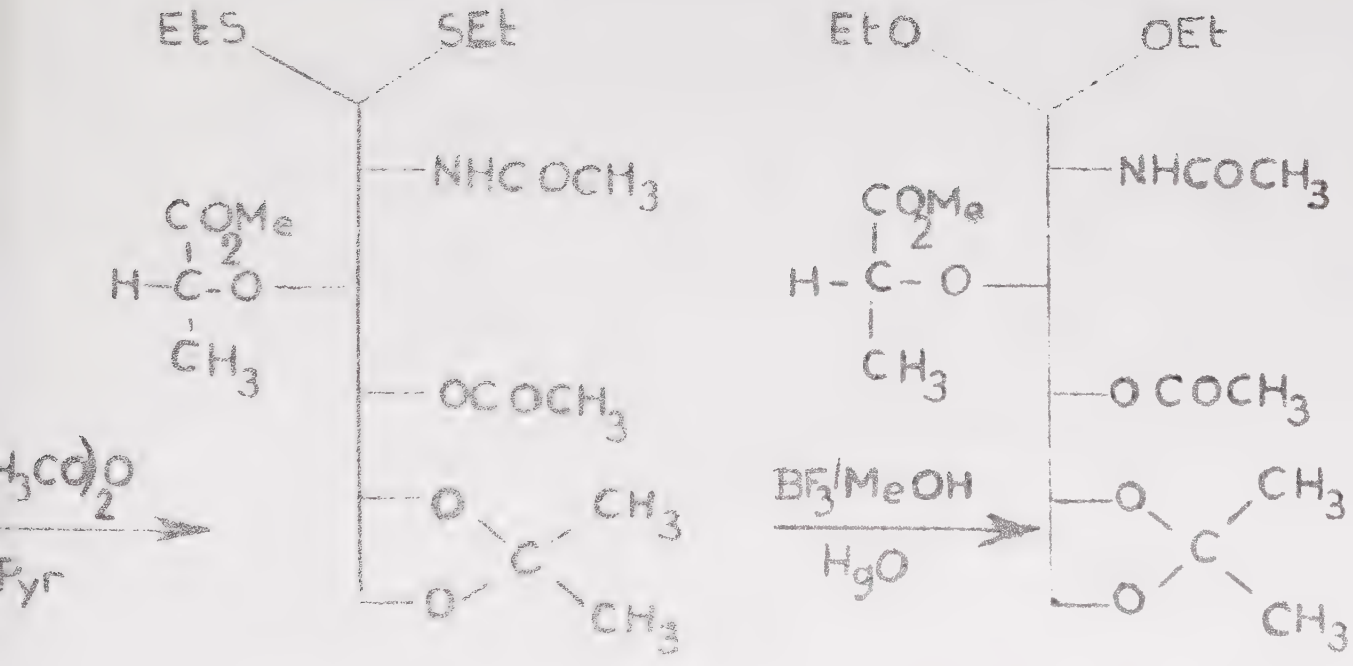
7 8


KOH
MeOH
EtS
SEt
NHCOCH3
CO2K
H-C-O
CH3
OH
O
C
CH3

9


H2SO4
CH2N2
EtS
SEt
NHCOCH3
CO2Me
H
C
O
CH3
OH
O
C
CH3
O
CH3

10


EtS
SEt
NHCOCH3
COMe
2
H
C
O
CH3
OCOCH3
O
C
CH3
O
CH3
Pyr

11

EtO
OEt
NHCOCH3
COMe
2
H
C
O
CH3
OCOCH3
BF3/MeOH
H2O
O
C
CH3
O
CH3

12

Il peut paraitre plus simple d'effectuer le couplage de la chaine lactyle sur la chaine droite de la glucosamine, ce qui évite une série d'étapes délicates. Cette voie avait été précédemment tentée au Laboratoire[19] elle imposait la protection sélective par un benzyl de OH en C-4, l'hydrolyse du carbonate, suivie de l'acétylation du groupement amino, la protection de la chaine lactyle et l'hydrolyse du benzyle. Il s'est avéré impossible de benzyler sélectivement OH, la réaction se faisant plus facilement sur NH.

Par ailleurs, une benzylation à la fois du NH et du OH était impossible à cause de la grande difficulté d'hydrogénétion des benzylamines. Ceci nous a donc imposé la synthèse décrite ci-après.

L'étape I → II a été faite suivant les travaux de Jeanloz et Gross[16] : on traite la N-acétylglucosamine par l'alcool benzylique contenant HCl **sec** . Après neutralisation de la solution obtenue, on précipite le mélange d'anomères qui est recristallisé avec un bon rendement. L'intérêt du choix d'un benzyl glycoside tient au fait que, dans la suite des étapes interviennent des groupements acido labiles (amide). Les benzyls glycosides, à côté de leur hydrolyse acide classique, peuvent également être facilement hydrogénolysés, ce qui, dans notre cas, est très utile car nous devons libérer la position 1 de notre sucre sans toucher à la fonction N-acétyl également labile en milieu acide fort.

Sur plaque, dans le mélange $CHCl_3$-MeOH 95:5, on observe deux taches correspondant aux deux anomères : l'anomère supérieur étant très prépondérant. Le rendement obtenu est similaire à celui de Jeanloz et Gross.

L'étape II → III est également bien connue et l'on reprend là encore les travaux de Jeanloz et Gross[16]. Le traitement du composé II par l'aldéhyde benzoïque en présence de $ZnCl_2$ nous a donné le benzylidène correspondant. A ce niveau nous avons essayé de déterminer le pourcentage de formes α et β contenues dans le mélange d'anomères. Pour ce faire, nous avons pris le pouvoir rotatoire du mélange bien séché. Nous avons trouvé + 89°.

Dans des conditions analogues de température et de concentration, les chiffres donnés dans la littérature sont 120° pour α et -89° pour β. Ce qui donne un pourcentage de 85% en α contre 15% en β.

Les premières étapes de cette synthèse sont donc assez stéréospécifiques. On peut donc constater, par examen de la plaque faite à cette étape dans le système MeOH 8/$CHCl_3$ 92, que le composé migrant en tête est α. La révélation des taches par l'anisaldéhyde donne deux colorations différentes : brun pour α, vert pour β, ainsi que des temps de révélation différents. Ceci est à ajouter à d'autres observations (isomération à la chaleur) montrant que les propriétés des deux produits, en particulier leurs stabilités sont très différentes.

Nous avons ensuite effectué le couplage de l'acide L-chloropropionique avec le sel de sodium en C-4 du produit III. L'acide L-chloropropionique instable a été préparé juste avant la réaction[18] ; cette préparation est assez instable et peut conduire à une racémisation.

Le sel de sodium[16] est préparé à chaud par l'action de l'hydrure de sodium dans le dioxanne sec ; le couplage se fait à chaud pendant la nuit.

Après traitement à l'eau, extraction à l'eau et neutralisation, le précipité obtenu est recristallisé dans le méthanol. Un nouveau dosage en vue de déterminer le % des deux anomères a été fait:

- pouvoir rotatoire composé α : + 115° PF 243-4°
- pouvoir rotatoire composé β: -52° PF 264-5°
- pouvoir rotatoire mélange : + 101° PF 234°

Nous pouvons en déduire le % de α : 92%. Par recristallisation, le mélange s'est enrichi en l'anomère le plus abondant.

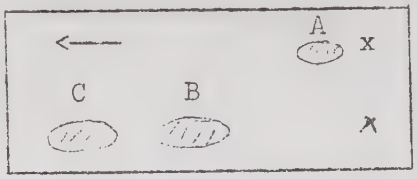
Le benzylidène a été enlevé par traitement à l'acide acétique aqueux à chaud[16]. En 10 mn la réaction est terminée et n'observons dans le système $CHCl_3$ 8/EtOH 2que deux taches, l'une migrant au fond et l'autre ne migrant pas du tout.

Après évaporation et élimination du benzaldéhyde, on recristallise. On obtient une seule tache allongée sur plaque dans le système CHCl 5/EtOH 5

L'étape 5 → 6[16] ne pose aucune difficulté : l'hydrogénation se fait à température ambiante et sous pression atmosphérique et on suit la réaction sur plaque dans le système $CHCl_3$ 4/EtOH 6. En 24 h. la réaction est terminée. Le produit obtenu est recristallisé dans un mélange de méthanol et d'acétate d'éthyle. Il cristallise avec une molécule de méthanol.

La réaction suivante consiste en l'ouverture du cycle hémioacétalique par l'éthanethiol en présence d'acide chlorhydrique concentré.

Cette réaction se fait à 0°C. Au bout de 48 h. après neutralisation, nous avons examiné le mélange réactionnel en chromatographie sur papier dans le mélange éluant BuOH 6, pyridine 4, eau 3. On constate la disparition totale du produit de départ A après révélation par le mélange ($AgNO_3$-NaOH) et lavage dans NH_4OH - et l'apparition de deux nouvelles taches à R_F plus élevé B et C .



Ces taches représentent certainement la chaine ouverte de l'acide N-acétyl muramique comportant l'acide libre d'une part, et la lactone avec l'hydrolyse en C-4, libéré lors de l'ouverture du cycle d'autre part. Ceci se trouve confirmé par les faits suivants : Nous avons effectué l'isolement des produits de deux façons différentes. Dans la réaction intervient à la fin, une neutralisation de l'HCl concentré par le carbonate de plomb. Dans le premier cas, le précipité est filtré et lavé à l'eau bouillante ; la première plaque faite à ce stade indique la présence de deux produits. Dans le second cas, nous avons traité le filtrat par un excès de Dowex 50 H^+ et nous avons observé une baisse du pH jusqu'aux environs de 2.

Ceci prouve que lors de la neutralisation, il se forme une certaine quantité de sel de plomb de l'acide muramique qui est soluble dans l'eau et que l'on retrouve dans le filtrat. Sur plaque , il y a certainement rupture de la liaison ionique $R\text{-}COO^- \; Pb^{++}$ comme c'est souvent le cas et apparition de la tache correspondant à l'acide.

Dans le second cas, nous libérons l'acide dans le filtrat. Par séchage azéotropique, nous refermons le cycle lactanique, ce qui se fait très facilement car il y a formation d'un cycle à 6 carbones très stable, ce qui explique le produit à haut R_F apparaissant par chromatographie sur papier, faite à ce stade. Le rendement obtenu est quantitatif, le produit observé en I.R. à 1750 cm^{-1} donne la bande caractéristique des lactones.

La formation de l'isopropylidène sur les groupements hydroxyles 5 et 6 se fait facilement dans l'acétone en présence d'acide sulfurique concentré comme catalyseur. Après neutralisation et évaporation, le sirop obtenu est distillé. La chromatographie faite sur plaque dans l'acétate d'éthyle montre la disparition du produit de départ et apparition d'une seule tache pratiquement unique.

Nous avons essayé de désulfurer cette lactone par la méthode habituelle. Nous n'avons obtenu aucun résultat ; il y a sans aucun doute formation d'un complexe insoluble avec $HgCl_2$.

Nous avons donc décidé d'ouvrir le cycle lactonique et de protéger OH-4 et le carboxyle.

L'ouverture de la lactone a été faite dans la potasse alcoolique. Nous avons ainsi obtenu un sel de potassium très hygroscopique que nous n'avons pas analysé et qui a été traité dans l'eau par H_2SO_4 afin de libérer l'acide. Après extraction à l'éther on traite par le diazométhane, ce qui permet d'obtenir l'ester méthylique correspondant. Cet ester se révèle pratiquement pur sur plaque (éluant : acétate d'éthyle).

Ce composé est assez instable ; en effet, par chauffage sous vide, il a tendance à redonner la lactone VIII avec libération de méthanol. Nous avons donc décidé, afin d'obtenir un produit facilement manipulable et pouvant être bien étudié, d'acétyler l'hydroxyle en C_4, pour éviter la transestérification.

Le produit X a donc été traité de la manière habituelle par l'anhydride acétique, dans la pyridine, ce qui nous a donné l'acétate correspondant avec un très bon rendement. Ce composé est distillable et a été analysé, étudié en I.R. et en R.M.N.

- En I.R., on observe les bandes correspondant aux NH à 3340 cm^{-1}, à l'ester à 1740 cm^{-1}, les deux bandes amides à 1678 et 1520 cm^{-1}.

- Le spectre R.M.N. nous donne une intégration correcte et des signaux avec la structure supposée du produit, parmi lesquels on peut noter : un doublet large pour NH à $\delta = 7,13$, un quadruplet à $\delta = 5,05$ pour le proton $C\underline{H}$-COOMe, un singulet de 3 protons à $\delta = 3,75$: $COOC\underline{H}_3$.

Le produit peut également être chromatographié sur colonne dans l'éluant C_6H_6 1/ACOEt 1.

La dernière étape est la désulfuration de la chaine droite. Pour ce faire, nous avons appliqué la méthode classique consistant à traiter le composé soufré par l'oxyde de mercure, le carbonate de cadmium et le chlorure mercurique à reflux dans l'éthanol sec[12].

Les plaques faites à la fin de la réaction dans l'acétate d'éthyle montrent qu'une seule tache a un R_F plus faible que pour le produit de départ. Le filtrat étant le produit, est évaporé puis repris par le chloroforme. Une plaque faite à ce moment montre la disparition totale du produit attendu. On observe trois taches proches migrant peu.

Nous ne pensons pas avoir, de cette manière obtenu, au cours de la réaction, le diéthylacétal qui doit être un produit stable. Nous n'avons aucune idée de ce qui se passe, ne voyant pas quel produit instable serait susceptible de se former dans les conditions de notre réaction. Ceci n'est pas observé dans le cas de la chaine droite de la N-acétyle glucosamine. Les travaux de Kühn et Brossmer[13,14], ainsi que de Dimitriev et Backinowsky[15] ne nous apportent aucun renseignement, car ils n'ont pas essayé de désulfurer leurs composés. Il était donc impossible d'appliquer cette méthode dans notre cas.

Nous avons donc pensé utiliser la méthode dont Dr Géro a fait une communication lors de la journée des Glucides à Orsay en septembre 1971. Il s'agit de la désulfuration par BF_3 dans le MeOH anhydre.

On traite le composé soufré par BF_3 dissous dans Et_2O en présence d'oxyde de mercure dans le MeOH anhydre, à température ambiante. Au bout de 30 mn la plaque faite dans l'acétate d'éthyle montre la disparition totale du produit de départ et l'apparition d'un produit principal au R_F inférieur à celui du produit de départ.

Après neutralisation au $KHCO_3$ et extraction à l'éther, on sèche sur sulfate de sodium et évapore le filtrat. Nous obtenons un très bon rendement (85%) ; il a été distillé. Ce composé a été étudié en I.R. et a été analysé. En I.R. on observe les bandes correspondant aux NH à 3380 cm^{-1}, à l'ester à 1745 cm^{-1}, les deux bandes amides à 1675 cm^{-1} et 1525 cm^{-1}, puis deux autres bandes esters 1240 cm^{-1} et 1210 cm^{-1}.

L'analyse est excellente. Nous nous sommes inspirés des travaux de Vedjs et Fuchs.

La première partie de notre travail était donc pratiquement terminée. Moyennant la désacétylation du OH C-4 par MeONa/MeOH qui ne semble présenter aucune difficulté, soit de préférence la désulfuration dès l'étape X pour

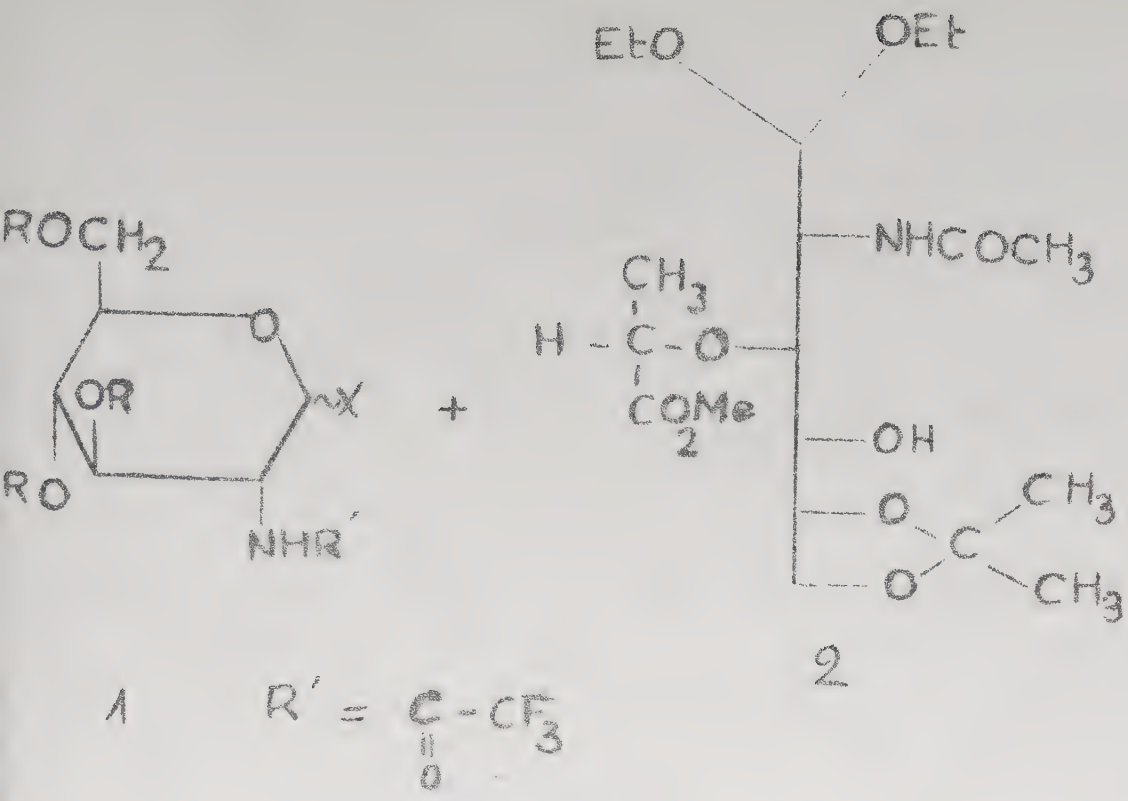
donner le produit XI, nous disposons d'un dérivé de l'acide N-acétyl muramique remplissant toutes les conditions imposées pour qu'une synthèse de Koënigs Knorr soit possible. Il nous restait donc à préparer un halogénose dérivé de la glucosamine, ce qui constitue la seconde partie de notre travail.

DEUXIEME PARTIE

Halogénose dérivé de la glucosamine

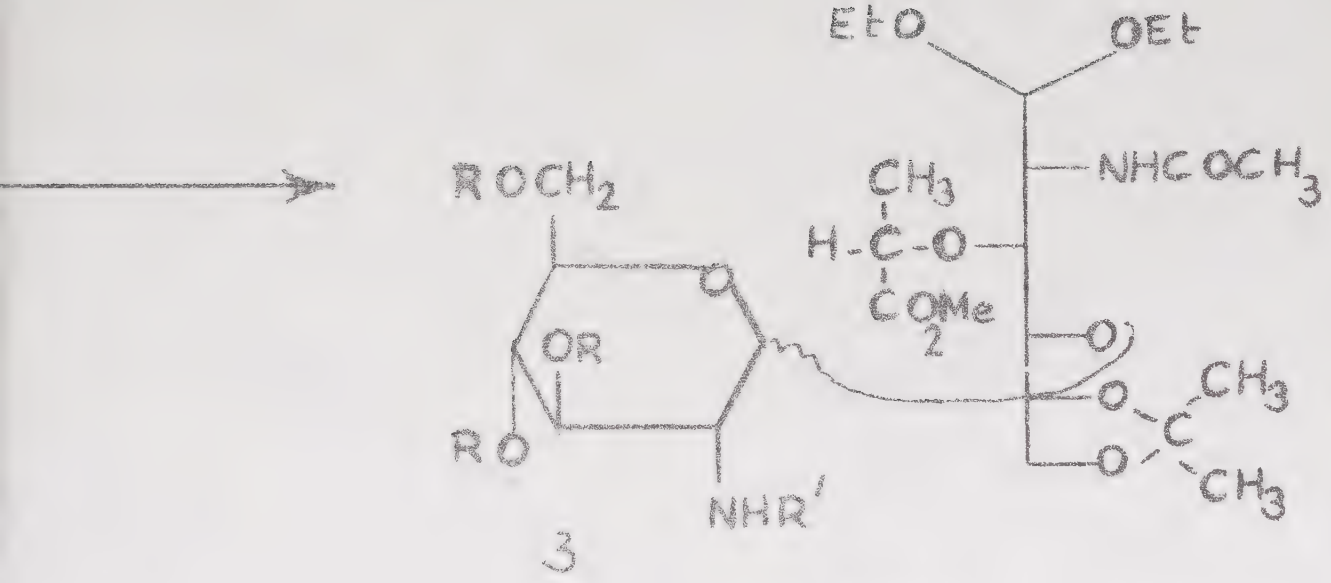
Il existe déjà de nombreux halogénoses préparés à partir de la N-acétyl glucosamine. Mais dans notre cas, il devait posséder des caractéristiques bien définies, imposées par la suite d'opérations nécessaires à l'obtention du disaccharide sous forme libre d'une part, et d'autre part par l'importance de la préparation des deux anomères α et β en vue de leur comparaison à l'échantillon naturel.

La série des réactions prévues après la condensation elle-même est schématisée ci-dessous :

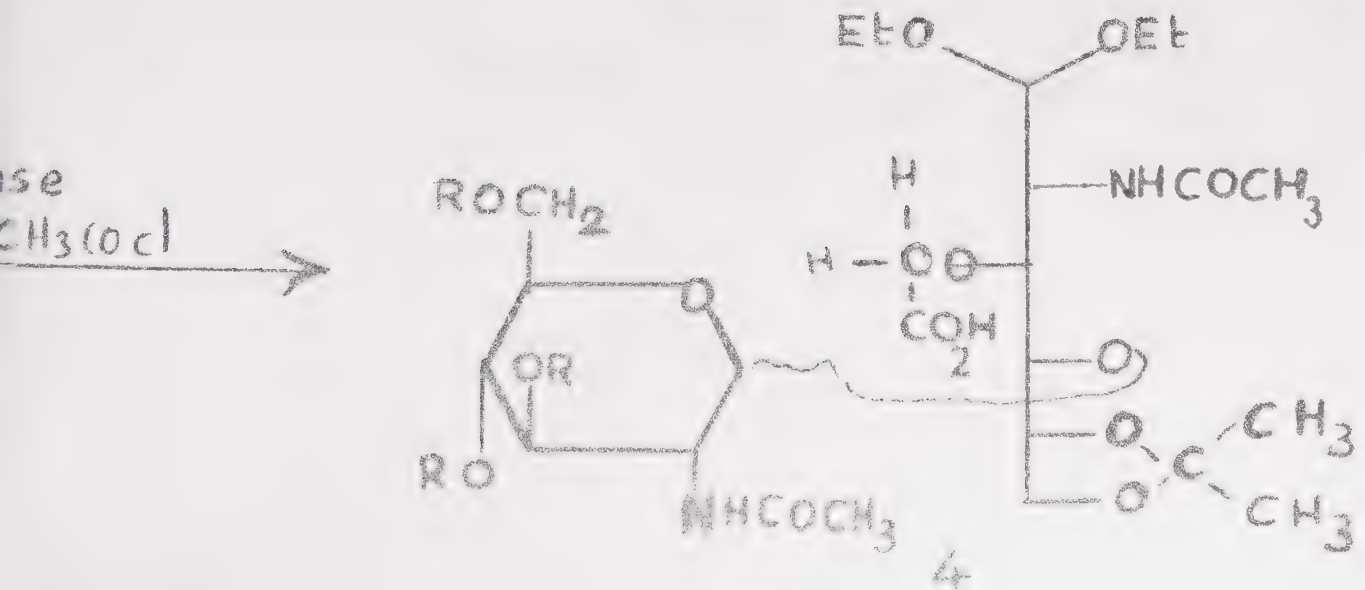


1 $R' = -\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CF_3$

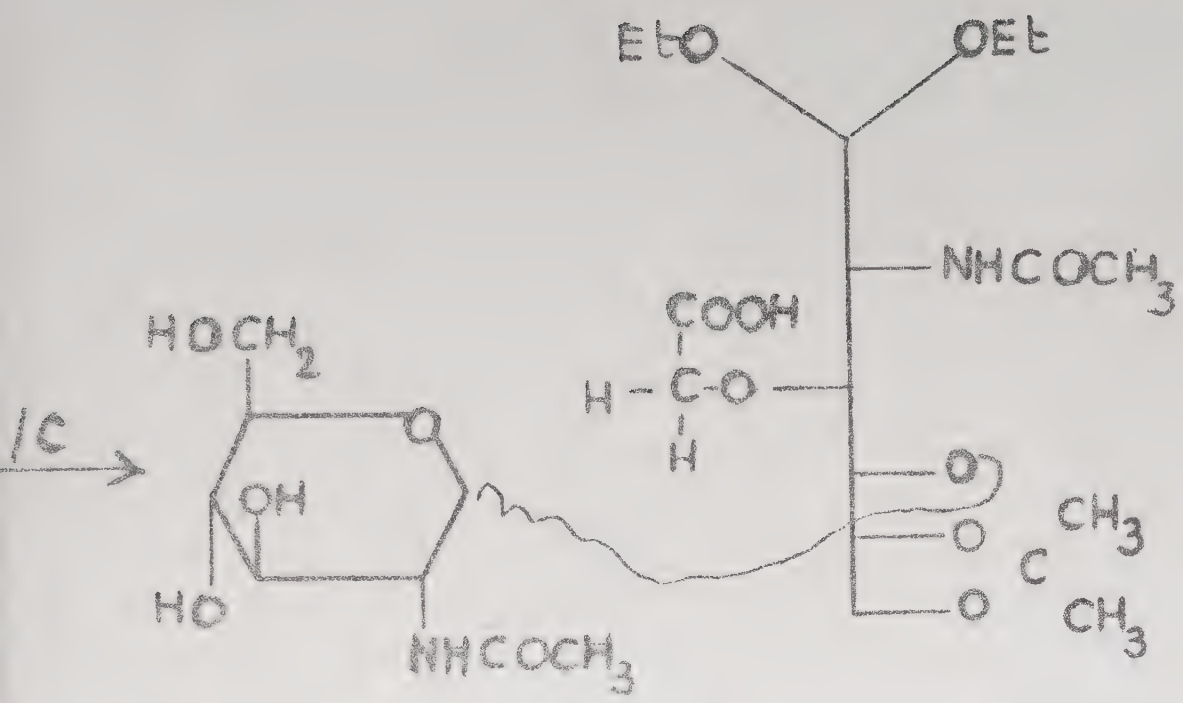
2



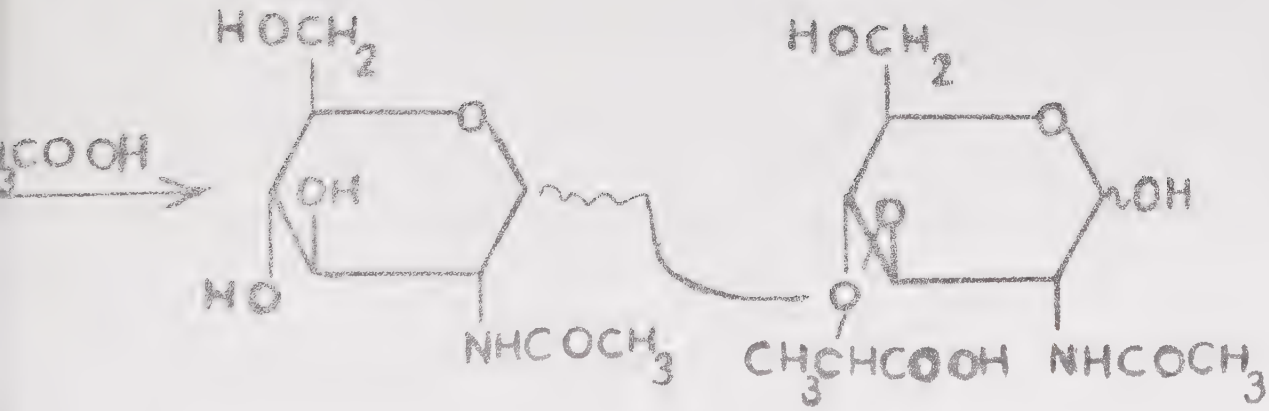
3



4


EtO
OEt
NHCOCH3
COOH
HOCH2
H-C-O
H
OH
HO
NHCOCH3
O
O
O
C
CH3
CH3

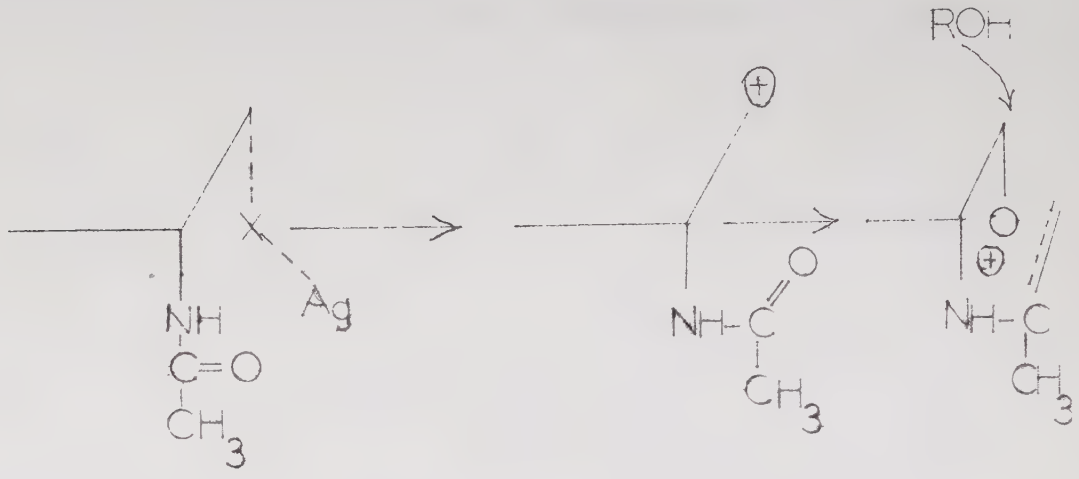
5


HOCH2
OH
HO
NHCOCH3
HOCH2
OH
O
CH3CHCOOH
NHCOCH3

6

Nous pouvons dès lors définir les caractéristiques de notre halogénose :

a. le groupement protecteur R' doit être non participant. Ceci écarte la possibilité d'utiliser le groupement acétyle ; en effet, dans ce cas, on sait qu'il se forme lors de la condensation un cycle oxazolidinium qui oriente la substitution en β et ce, quelle que soit la configuration de l'halogénose.



La première étape de la réaction consiste en l'arrachement de l'halogène pour former un carbocation qui est ensuite stabilisé.

b. le groupement N-acétyl étant néanmoins nécessaire dans le produit final, il faut que ce groupement R' soit facile à enlever. Ceci écarte par exemple la possibilité de protection de l'amine par un benzyle.

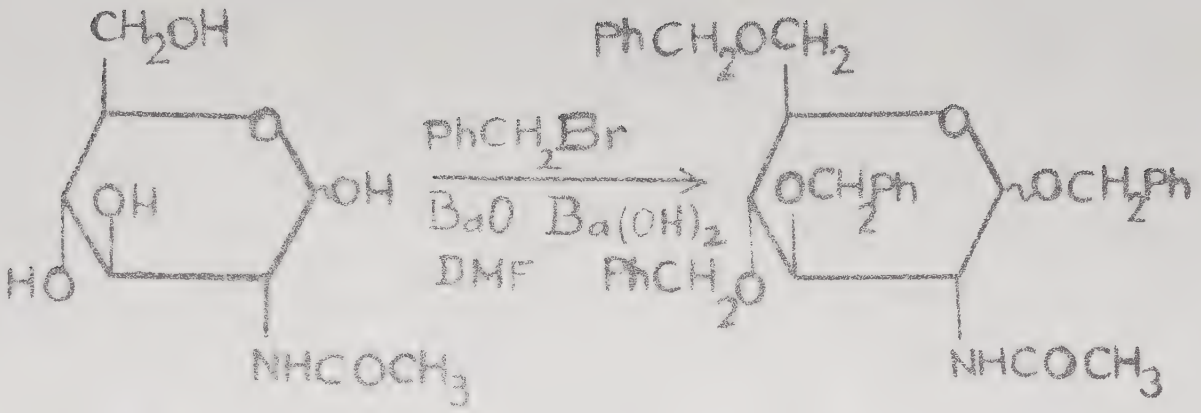
c. il faut que les groupements R, d'après le schéma réactionnel que nous nous sommes fixé, soient stables dans les conditions d'une transestérification, ce qui exclut l'emploi d'esters.

Pour le groupement R', nous aurions pu évidemment utiliser le groupement diphénoxyphosphoryle déjà décrit par Paulsen et ses collaborateurs[12] qui est effectivement non participant et facilement hydrogénable. Nous avons préféré choisir en un premier temps le groupement trifluoroacétyle qui était intéressant à différents titres. Tout d'abord, il est très facile à enlever puisqu'à pH 10 il s'hydrolyse complètement.

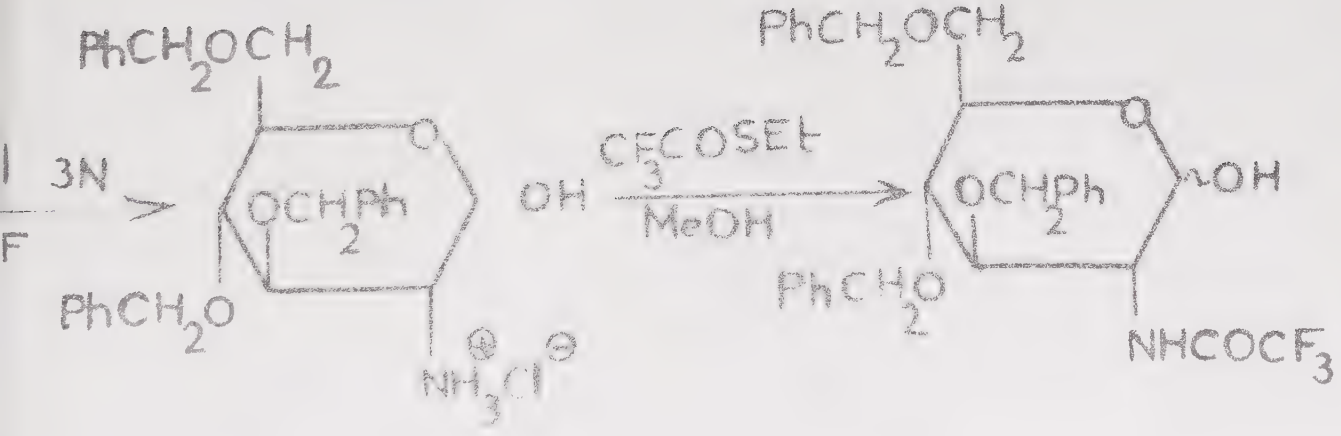
D'autre part, tous les halogéno-acétates sont signalés comme étant non participants ; en fait ceci n'est pas clairement démontré et nous avons pensé qu'il était intéressant, à côté de notre travail principal, de préciser les effets exercés par ce groupement dans le cas d'une synthèse de Koenigs Knorr.

Pour les groupements R, nous avons été tout naturellement conduits à utiliser les groupements benzyles. La préparation des dérivés benzylés est assez facile ; de plus les benzyles sont stables, comme tous les éthers en milieu basique ou acide, mais sont facilement hydrogénés.

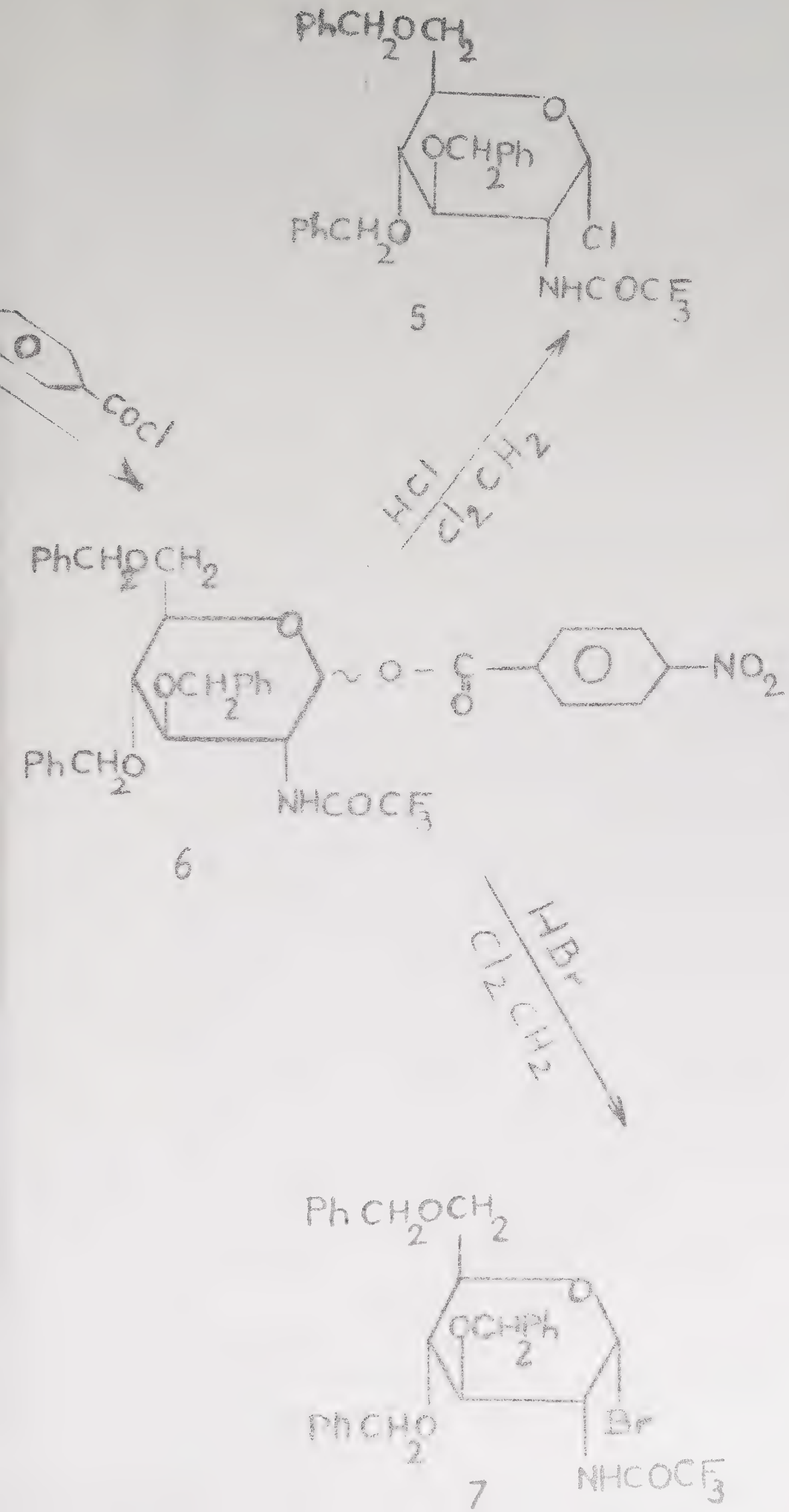
Nous avons donc choisi la voie de synthèse décrite ci-dessous :


CH2OH
OH
OH
HO
NHCOCH3
PhCH2Br
BaO Ba(OH)2
DMF PhCH2O
PhCH2OCH2
OCH2Ph
OCH2Ph
NHCOCH3

1 2


PhCH2OCH2
3N
F
OCH2Ph
PhCH2O
NH3Cl
OH
CF3COSEt
MeOH
PhCH2OCH2
OCH2Ph
OH
PhCH2O
NHCOCF3

3 4


PhCH2OCH2
OCHPh2
PhCH2O
Cl
NHCOCF3
5
COCl
HCl
Cl2CH2
PhCH2OCH2
OCHPh2
PhCH2O
NHCOCF3
NO2
6
HBr
Cl2CH2
PhCH2OCH2
OCHPh2
PhCH2O
Br
NHCOCF3
7

L'étape I→ II a été effectuée d'après les travaux de Harrisson et Fletcher [21,22]. On traite le sucre dans la DMF par le bromure de benzyle, en présence de BaO et $Ba(OH)_2$. La réaction se fait facilement à température ambiante. Après filtration, évaporation du filtrat, nous avons obtenu sans difficulté le produit benzylé.

L'étape II → III se fait également facilement[21]. On traite le benzylglycoside par HCl3N dans THF à reflux. On isole le produit débenzylé en C-1 et chlorhydraté sur NH_2.

Nous avons ensuite traité le chlorhydrate successive--ment de MeONa dans MeOH pour libérer le groupement amino. Puis par CF_3COSEt suivant la méthode de Wolfrom et Conigliaro[25]. Il y a coupure au niveau de CF_3/O C et fixation d'un groupement trifluoroacétate sur l'amine. La réaction se fait facilement à température ambiante ; par évaporation et cristallisation, dans l'acétone, nous obtenons le produit pur, analysé avec un bon rendement (65 %).

Le paranitrobenzoate V a été préparé de la manière classique, par action de NO_2 - O - COCl dans la pyridine, à température ambiante. Après le traitement habituel, une pla--que est faite (avec pour éluant le système $CHCl_3$-ACOEt 97:3) montrant qu'il ne reste plus de produit de départ.

Nous avons pu cristalliser le mélange des anomères et l'obtenir pur sur plaque. Le rendement était de 60 %.

Ce mélange a été étudié en I.R.. Le spectre obtenu est compatible avec celui que devrait donner le produit attendu. On peut noter plus particulièrement les bandes à 1740 cm^{-1} caractéristiques duparanitrobenzoate et à 1610 cm^{-1} due au noyau phényl conjugué avec le CO de l'ester. De même à 1530 cm^{-1} on observe la bande caractéristique de NO_2.

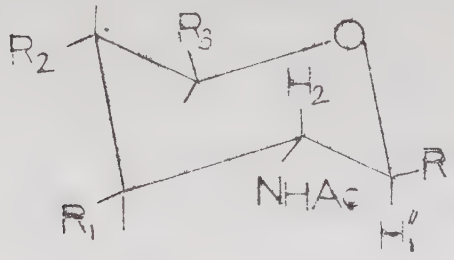
Afin d'étudier le mélange des paranitrobenzoates obte--nus, nous l'avons chromatographié sur colonne de silice en éluant avec du $CHCl_3$ contenant 3 %.d'acétate d'éthyle. Nous avons ainsi réussi à séparer totalement les deux anomères dont nous avons pris les pouvoirs rotatoires et les spectres RMN. De plus, ils ont été cristallisés et analysés.

Les spectres de RMN des deux produits présentent des différences notables. En effet, si l'on retrouve dans les deux cas le même nombre de protons dans les mêmes zones de déplacement chimique, il n'en est pas de même de l'aspect des signaux.

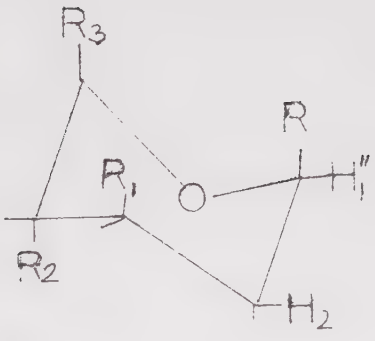
Tout d'abord, chose importante, on peut immédiatement déterminer la configuration en C-1 des deux anomères.

L'anomère supérieur donne à $\delta = 6,5$ ppm un doublet étroit avec constante de couplage 3hz.

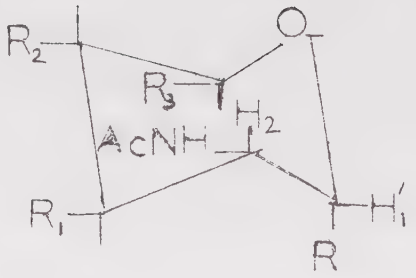
Soient les structures possibles du cycle, dessinées ci-dessous :



B



C



D

L'application des règles de Korplus font correspondre à un couplage faible de 3 hz un angle entre les liaisons C_1H_1, C_2H_2 voisin de 60°. Les trois figures (A), (C), (D) représentent les structures du cycle satisfaisant à cette condition ; mais il est évident que la structure (C) n'est pas possible. En effet, tous les gros substituants se retrouvent en position axiale.

Dans le cas du dérivé β, donc seule la forme chaise (B) peut exister, dans laquelle tous les groupements sont équatéraux.

Dans les structures (A) et (D) nous avons soit R équatorial, R_1, R_2, R_3 axiaux ; soit R axial, $R_1R_2R_3$ équatoriaux. Il est difficile dans ce cas de prévoir quelle forme sera prédominante. Heureusement ceci ne change rien aux données de notre problème. Quelle que soit la structure considérée, en effet, l'angle entre les liaisons C_1H_1, C_2H_2 est voisin de 60°, ce qui correspond au couplage de 3 hz que l'on observe. On peut donc dire que l'anomère supérieur possède la structure α.

De la même façon, le second anomère présente, pour le signal de H_1 à 6 ppm un doublet avec, comme constante de couplage, J = 7 hz ; ce qui, toujours d'après Karplus, correspond à un angle voisin de 180°. La structure correspondant à ce second anomère est représenté par la figure (B).

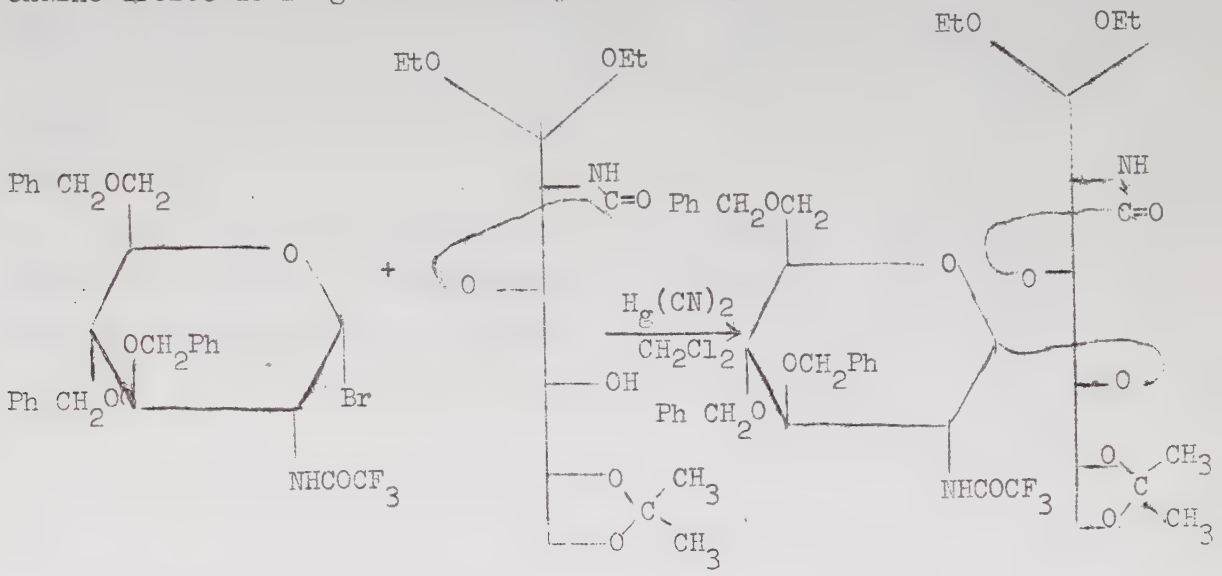
La R.M.N. nous permet donc de déterminer la configuration des deux anomères.

La comparaison des deux spectres nous montre également un phénomène curieux : examinons le signal des 4 protons du paranitrobenzoate à δ = 8 ppm. Dans le cas de l'anomère α, nous obtenons un signal caractéristique d'un spectre AB. Les protons portés par le cycle aromatique sont équivalents 2 à 2, couplés, et leurs déplacements chimiques sont voisins ; on doit donc s'attendre à un signal de cette sorte. Dans le cas de l'anomère β, nous n'observons curieusement qu'un seul pic, ce qui implique que les quatre protons du paranitrobenzoate sont équivalents. Nous pensons que ceci s'explique par le fait que les deux anomères présentent des configurations différentes, les protons du paranitrobenzoate sont soumis différemment dans les deux cas aux effets d'anisotropie créés par les noyaux aromatiques des substituants benzylés.

Les étapes V → VIa et V → VIb ont été faites d'une manière similaire On traite le paranitrobenzoate à froid par HCl ou HBr secs, dissous dans CH_2Cl_2. Dans les deux cas nous avons obtenu un rendement à peu près quantitatif en acide paranitrobenzoïque qui se forme au cours de la réaction, et de bons rendements en halogénoses qui ont été analysés et étudiés en R.M.N. (60%).

Les deux spectres obtenus sont très semblables et ne diffèrent que dans la position du doublet H_1-1 que l'on trouve à δ = 6,2ppm dans le cas du chlorure et δ = 6,6 ppm dans le cas du bromure. Les constantes de couplage étant respectivement égales à 4 hz et 3 hz.

Afin de tester la réactivité des halogénoses préparés et d'avoir une première idée du pourcentage des anomères formés lors d'une synthèse de Kœnigs Knorr, nous avons essayé une première synthèse en partant de la chaine droite de la glucosamine déjà décrite par Paulsen.



La réaction a été faite dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 48 h. Après isolement du résidu, nous obtenons une c.c.m. dans l'éluant C_6H_6/MeOH 185:15.

Sur cette plaque, outre le produit de départ que nous avons ajouté en excès, nous trouvons :

1) Une tache ne migrant presque pas,

2) 2 petites impuretés : une avec R_F 0,5 et une autre près du front

3) Un produit prépondérant à R_F élevé.

Ce produit a été isolé par chromatographie sur plaque épaisse et nous l'avons étudié en I.R. et R.M.N.

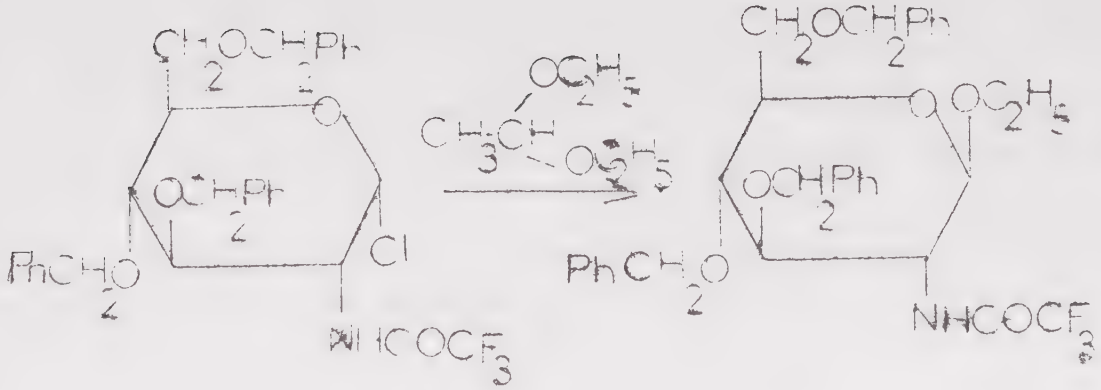
En I.R. nous n'observons aucune bande à 1750 cm^{-1} caractéristique de l'oxazolidinone. Il semblerait donc qu'il n'y ait pas eu condensation. Par contre, nous trouvons bien les bandes correspondant à NH, au CO de l'amide à 1707 cm^{-1} et 1560 cm^{-1}. Ce produit donne également PF = 169°C, $|\alpha|_D^{20}$ = + 10°.

Le spectre R.M.N;, bien que difficilement interprétable, nous permet quand même de faire des observations suivantes :

Aucun signal aux environs de 2 ppm correspondant aux isopropylidènes de la chaine droite. L'intégration ne nous permet pas d'évaluer la quantité de protons dans les différents massifs ; mais nous pouvons remarquer à 1,2 ppm un signal qui peut être un triplet, avec comme constante de couplage 7,5 hz. Ceci évoque bien le CH_3 d'un groupement éthyle.

Nous avons donc un produit qui ne semble pas comporter de partie de chaine droite, mais peut-être un groupement éthyle. Nous avons alors pensé qu'il pouvait s'agir de l'éthylglycoside dérivé de notre halogénose. Le groupement éthyle ne pouvant provenir que du diéthylacétal en C-1 de la chaine droite.

Pour vérifier notre hypothèse, nous avons fait réagir dans les conditions d'une synthèse de Koenigs Knorr le chlorure VIa avec le diéthylacétal de l'acétaldéhyde.



Nous avons effectué cette réaction en présence de $Hg(CN)_2$ en utilisant un mélange de CH_2Cl_2 et d'acétal comme solvant.

Au bout de 24 h., le produit est isolé et cristallise dans un mélange de chloroforme et d'éther de pétrole.

Sur plaque, dans un système EtOH-$CHCl_3$ 2:98 nous observons que le produit obtenu migre au même niveau que le produit précédent.

Par ailleurs, le point de fusion 170°C est voisin du composé précédent, 169°C. Le pouvoir rotatoire $|\alpha|_D$ = +13° est très peu différent de celui du composé précédent α_D = +10°. Les spectres I.R. et R.M.N. sont très semblables.

Nous avons donc mis en évidence avec l'halogénose utilisé un nouveau type de réaction. A notre connaissance, on n'avait jamais remarqué auparavant, de réactivité d'un halogénose vis-à-vis d'un acétal de ce type.

En vue de généraliser éventuellement ce type de réaction, nous avons préparé un halogénose plus courant, correspondant à un éthylglycoside connu : le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-α-D galactopyranosyle.

Nous l'avons fait réagir dans les mêmes conditions que précédemment. Sur plaque, nous avons obtenu deux taches. Ce mélange a été chromatographié sur colonne, ce qui nous a permis d'isoler un produit avec 35% de rendement - de pouvoir rotatoire α_D = -30° dans le benzène et comme point de fusion 88°C.

Les points de fusion et le pouvoir rotatoire d'éthyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl galactopyranoside authentique sont 88°C et α_D = -29,8°.

Dès lors nous pouvons conclure que cette réaction est généralisable. Ce phénomène n'a pas été observé par Paulsen, pas plus que par Jeanloz et Shabon.

Nous ne pouvons donc expliquer ce phénomène qui nous semble très analogue à ce qui est observé dans le cas de chlorures d'acides[26].

Il faudrait, pour expliquer ce phénomène, admettre que dans le cas de la réaction avec la chaine droite, l'halogénose utilisé serait plus réactif vis-à-vis du groupement acétal que l'hydroxyle. Mais, là encore, nous ne pouvons en donner la raison. Devant l'échec de nos investigations, nous avons arrêté là les expériences constituant la deuxième partie de notre travail.

Pour les commodités de l'hypothèse avancée et vérifiée nous avons étendu l'expérience à différents types d'acétals afin de généraliser la réaction. Cet ensemble constitue la troisième partie de notre travail.

TROISIEME PARTIE

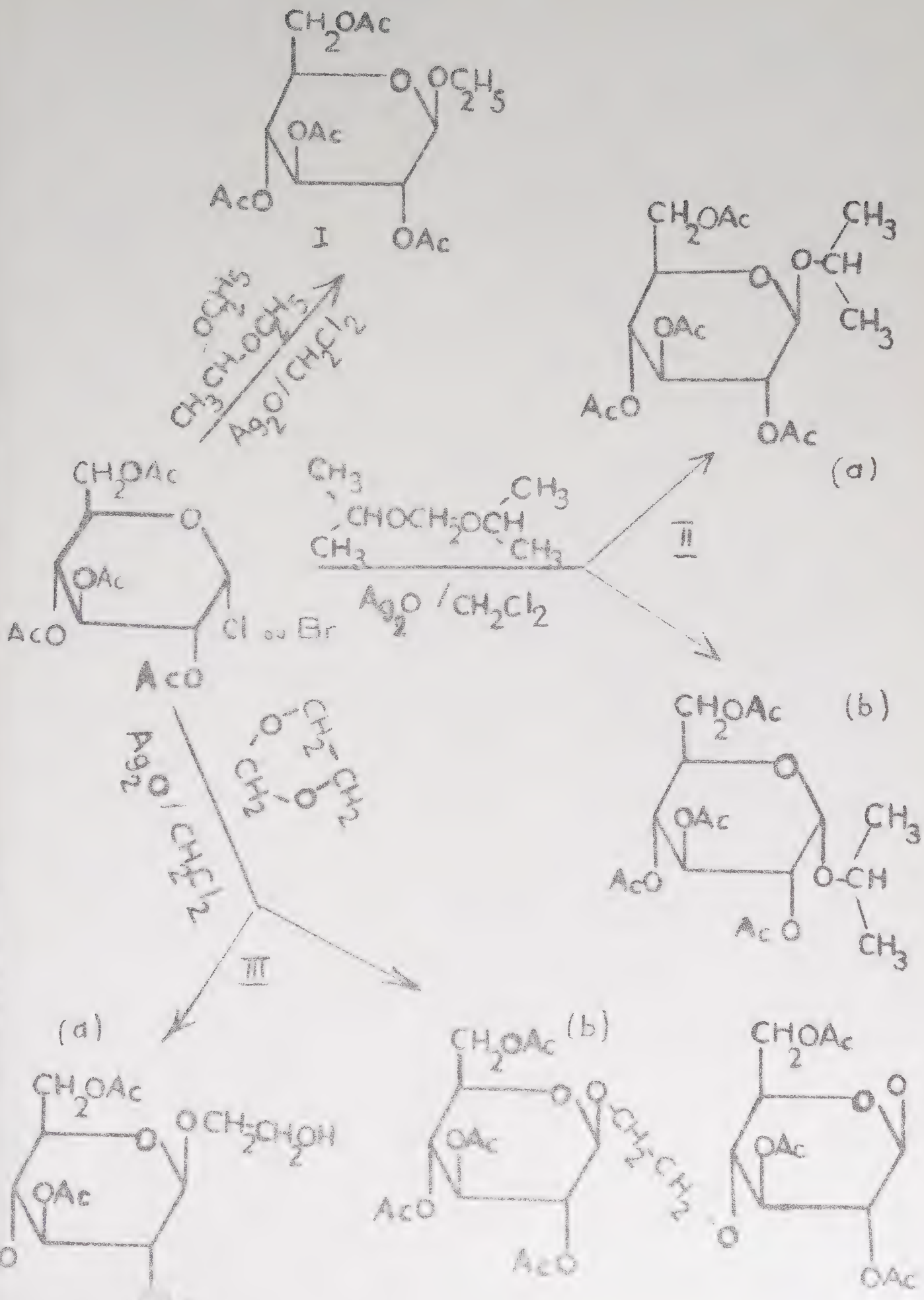
La condensation de la chaine droite sur l'halogénose, en présence de cyanure mercurique, d'oxyde de mercure et de carbonate de cadnium, dans l'éthanol, dans le cadre d'une synthèse de Koënigs Knorr, en vue d'obtenir un disaccharide, s'étant révélée négative, a mis en lumière cependant un produit nouveau. Ce dernier fait appel à un type de réaction originale.

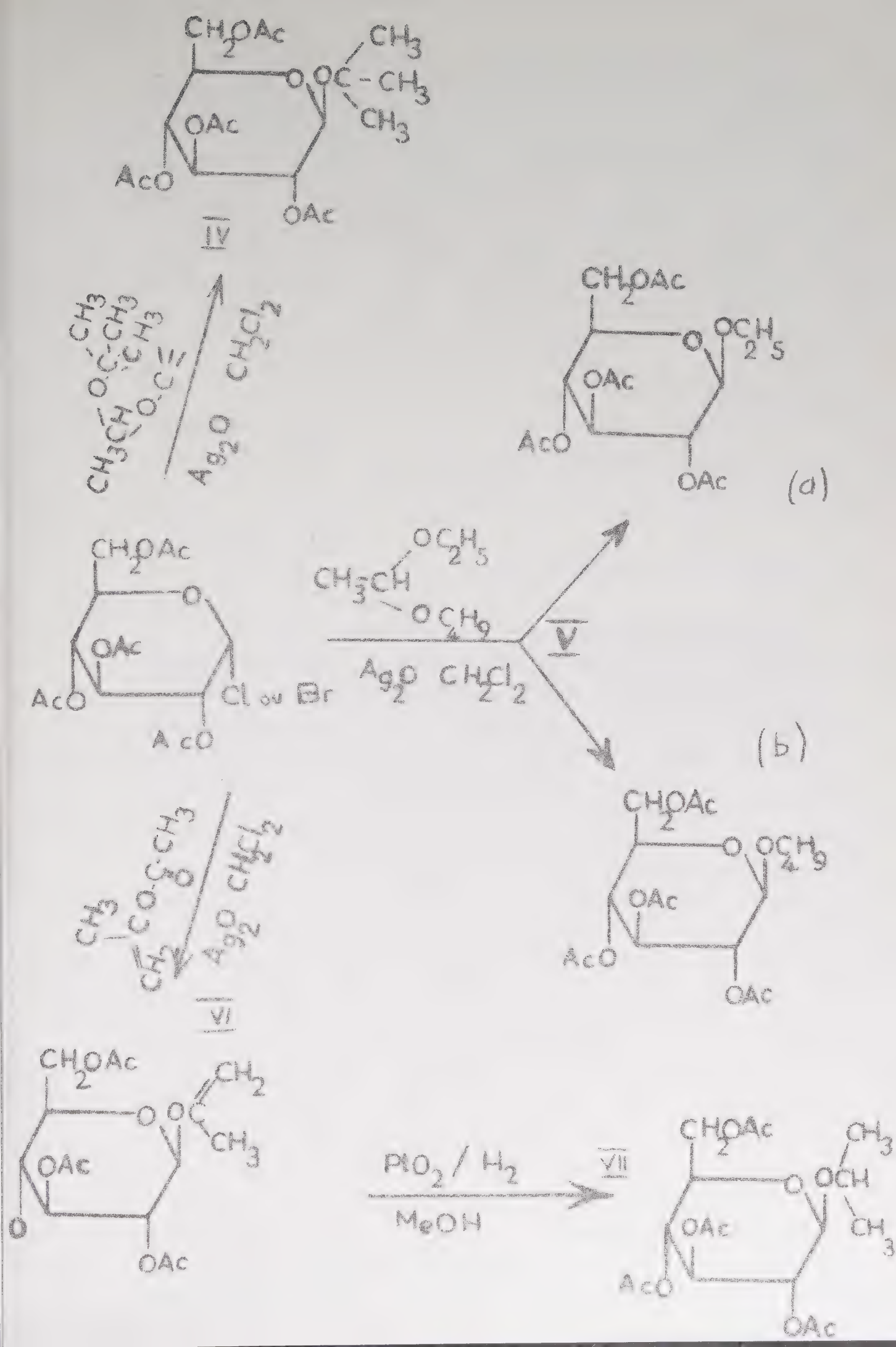
En vue de généraliser ce mode opératoire, nous avons effectué une série de réactions avec différents types d'acétals.

Afin d'éviter tout litige susceptible de rejeter l'hypothèse avancée, disant qu'il pourrait y avoir la présence d'eau provoquant la formation de HBr à partir de l'halogénose, nous avons soigneusement distillé tous les acétals employés sur $LiAlH_4$ et les avons conservés sur tamis moléculaire.

Par ailleurs, toutes nos expériences ont été faites avec Ag_2O comme catalyseur, ce qui neutraliserait l'acide ainsi formé. Les solvants utilisés sont rigoureusement purs et anhydres. D'autre part, nous avons préparé deux halogénoses[26] qui sont| (le chloro et le bromo) 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D glucopyranosyles| dont nous nous sommes servi pour toutes les réactions effectuées.

Afin de généraliser l'hypothèse avancée et vérifiée sous une forme définitive de réaction type, nous avons choisi la série de synthèses schématisées ci-dessous :


CH2OAc
O
OC2H5
OAc
AcO
OAc
I
CH3CH2OC2H5
Ag2O / CH2Cl2
CH2OAc
CH3
O-CH
CH3
OAc
AcO
OAc
(a)
CH2OAc
O
OAc
AcO
Cl ou Br
AcO
CH3
CHOCH2OCH
CH3
CH3
Ag2O / CH2Cl2
II
CH2OAc
(b)
O
OAc
CH3
AcO
O-CH
AcO
CH3
Ag2O / CH2Cl2
III
(a)
CH2OAc
O
OCH2CH2OH
OAc
(b)
CH2OAc
O
O
OAc
AcO
AcO
CHOAc
O
O
OAc
O
OAc


CH2OAc
CH3
O
O C - CH3
CH3
OAc
AcO
OAc
IV
CH3
O-C-CH3
CH3CH
O-C
Ag2O CH2Cl2
CH2OAc
O
OC2H5
OAc
AcO
OAc
(a)
CH2OAc
O
OAc
AcO
Cl ou Br
AcO
OC2H5
CH3CH
OC4H9
Ag2O CH2Cl2
V
(b)
CH2OAc
O
OC4H9
OAc
AcO
OAc
CH3
C-O-C=O
CH3
CH2
Ag2O CH2Cl2
VI
CH2OAc
O
O
CH2
C
CH3
OAc
O
OAc
PtO2 / H2
MeOH
VII
CH2OAc
CH3
O
OCH
CH3
OAc
AcO
OAc

En ce qui concerne la synthèse proprement dite, on met en présence les deux composés en quantité équimolaire (avec un léger excès d'acétal) en présence de Ag_2O dans CH_2Cl_2. La réaction se fait à température ambiante à l'abri de l'humidité et de la lumière. Après traitement au $CHCl_3$ et à l'eau, on sèche sur Na_2SO_4 et évapore à sec.

C.C.M. dans le système (C_6H_6 - ACOEt 5:2) montre plu-sieurs tâches. Le résidu est donc chromatographié sur colonne avec comme éluant (C_6H_6- ACOEt 5:2). Il en résulte trois tâches distinctes : la supérieure correspond au produit de départ qui n'a pas réagi (PF = 70-71°).

La tache n°2 au (R_F=0,63) donne dans un premier temps (PF=89-90°) dans un second temps après recristallisation dans l'eau (PF= 94-95°) avec un faible rendement (25 %).

Ce produit a été analysé et semble répondre, d'après les résultats positifs et l'intégration de la R.M.N., à un disac-charide du type β.

La tache n°3 au (R_F= 0,46) donne un sirop que nous n'arrivons pas à cristalliser.

Les constantes physiques des produits obtenus par Kenjala et Link[30] ne correspondent pas aux nôtres. Ils synthéti-sent en effet B-éthylène glucopyranoside dans un premier temps en faisant réagir l'éthylène glycol sur le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl glucopyranosyle en présence de $AgCO_3$ dans le benzène à température ambiante 24 h.

Dans un deuxième temps, ils obtiennent le disaccharide en ajoutant au produit précédent, un équivalent du bromure 48 h. à température ambiante, en présence de $AgCO_3$ dans C_6H_6. La réaction se fait en deux temps puisqu'il faut ensuite chauffer à 70° le sirop obtenu après traitement dans l'eau. On recristallise après filtration dans l'alcool absolu. Le disac-charide obtenu est du type β.

IV - Le terbutylacétal a été préparé selon la méthode de Huyser[31] et Wang qui consiste à faire réagir mole à mole, l'al-cool terbutylique et l'acétaldéhyde en présence d'acide para-toluène - sulfonique. Nous portons le mélange réactionnel à ébullition sans toutefois dépasser 60°. La réaction dure 30 m;. Nous ajoutons NaOH et distillons. Le distillat est recueilli dans un ballon refroidi à 0° et contenant du tamis moléculaire.

En ce qui concerne la préparation du glycoside, nous employons toujours le même mode opératoire que les précédents.

I- L'éthylglycoside a déjà été décrit ci-dessus. Rappelons que l'anomère formé est de configuration β-D glucopyranoside.

II-Pour effectuer la synthèse dérivée du diisopropoxyméthane[27], nous avons d'abord préparé l'acétal ramifié.

On porte à reflux 8 h. un mélange de formaldéhyde (polyoxyméthylène) dans l'isopropanol en présence de HCl concentré. Après traitement à l'eau et séchage sur KOH, on distille le résidu sur $LiAlH_4$-(Eb 79-80°C). On conserve le liquide sur tamis moléculaire. Nous en avons fait une R.M.N..

La synthèse proprement dite avec l'halogénose se fait à température ambiante pendant 48 h., à l'abri de la lumière et de l'humidité.

On met en présence les deux composés en quantité équimolaire (avec un léger excès d'acétal). Comme catalyseur on emploie de l'oxyde d'argent. Le solvant utilisé est du dichlorométhane. Après les divers traitements, à savoir : l'extraction au chloroforme et le lavage à l'eau, on sèche sur du sulfate de sodium et on évapore. Rendement : 90%. c.c.m. dans un système (C_6H_6 ACOEt 5:2) montre plusieurs taches. Ce mélange a été chromatographié sur colonne. Il en résulte deux anomères parfaitement purs. La recristallisation se fait dans l'éthanol.

L'anomère β migre plus haut (R_F = 0,56) et est prépondérant (75%). PF = 136°-137°C. Son pouvoir rotatoire est $|\alpha|_D^{20} = -25°$ ($CHCl_3$).

L'anomère α (R_F = 0,42) (15%) PF = 85-86°C $|\alpha|_D^{20} = +56°$($CHCl_3$).

Les constantes physiques de nos composés correspondent à ceux des travaux de Lindberg[28] effectués en 1948.

1) α PF = 85,5°-86,5° α_D = +55,8°($CHCl_3$)
2) β PF = 136 - 137° α_D = -24,4°($CHCl_3$)

Dès lors, nous pouvons conclure que nous obtenons des dérivés isopropyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl α, β glucopyranosides.

III - De même que dans le cas précédent, nous avons préparé le 1,3 dioxolanne[29] avant d'effectuer la synthèse des glycosides correspondants.

On porte à reflux 8 h. un mélange d'éthylène glycol et de formaldéhyde (polyoxyméthylène) en présence de HCl concentré. Après traitement à l'eau, on sèche sur KOH et distille sur $LiAlH_4$ - (Eb = 74°). Le liquide est recueilli dans un flacon contenant des tamis moléculaires. Nous en avons fait une R.M.N.

Toutefois, il est bon de noter que la réaction s'est avérée négative après 72 h. Nous pensons que cela est dû à l'encombrement stérique.

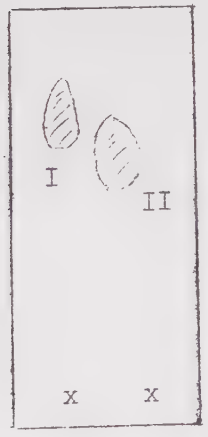
Cependant, Kochetkov et Klimov[32] ont préparé ce dernier à partir du bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D glucose dans du toluène, en présence du CO_3Ag.

V - D'une manière générale, les acétals mixtes[31] se préparent par une réaction en catalyse acide du vinyléther sur un alcool avec 40 à 70% de rendement.

$$CH_2 = CH - O - R + R'OH \xrightarrow{H^+} CH_3 - CH \begin{matrix} OR \\ OR' \end{matrix}$$

Dans le cas du butyléthylacétal[33] nous sommes partis du diéthylacétal auquel nous avons ajouté un équivalent de BuOH en présence d'acide sulfurique. La réaction dure deux jours, ensuite nous distillons (Eb = 148-150°) avec un très faible rendement.(40%).

La réaction avec le dérivé bromo donne un mélange de deux produits que nous avons séparés par chromatographie sur colonne avec comme éluant ($C_6H_6$5 $ACOEt_2$) Nous avons donc isolé deux produits purs dont les points de fusion correspondent à ceux de la littérature. Ce sont :



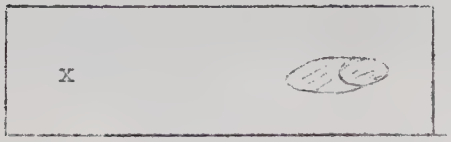
I Le butyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D glucopyranosid
F = 63 - 65° (30,3%)

II L'éthyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranoside
F = 103-105° (22,7 %)

VI - Nous avons préparé le dérivé isopropényl-tétra-O-acétate 2,3,4,6-β- glucopyranoside en partant de l'acétonenol acétate avec le même mode opératoire que les précédents.

Nous avons obtenu un mélange de deux anomères pratiquement purs après deux chromatographies sur colonne ; avec comme éluant le système |($CHCl_3$/MeOH 95:5)25 (Ether)75|

Les deux anomères sont indissociables. Nous en avons fait un spectre de R.M.N.



Pour confirmer la structure de notre produit, nous avons fait une hydrogénation qui nous donne le dérivé isopropyl tétra-O-acétate 2,3,4,6-β-D glucopyranoside;

Ainsi donc nous avons établi une réaction générale, à partir de différents acétals sur un halogénose (chloro ou bromo).

Dans tous les cas nous obtenons un dérivé β-glycoside, sauf pour le diisopropoxyméthane où nous avons un mélange α, β.

o

o o

PARTIE EXPERIMENTALE

1) Préparation du benzyl-2-acétamido-2-désoxy α. β D-glucopyranoside

Mode opératoire :

On agite 1 h 30 à 70°, 93,2 g de N-acétyl glucosamine (0,4 mole) dans 2 l d'alcool benzylique contenant 2% de HCl gazeux. On neutralise la solution par du carbonate de plomb, filtre et lave le précipité à l'alcool bouillant. On ajoute du diisopropyléther au filtrat, laisse une nuit le mélange à -10°, puis filtre ; le précipité remis en suspension dans l'éther est filtré et lavé à l'hexane. On le recristallise alors dans l'alcool à -10° après séchage sous vide à 70° pendant 20 h. On obtient 110 g de produit final (Rendement : 95%).

2) Préparation du benzyl-2-acétamido-4,6-O-benzylidène-2-désoxy-α,β-D-glucopyranoside.

Mode opératoire :

On agite une nuit un mélange de benzyl-2-acétamido-2-désoxy-α,β-D-glucopyranoside (62 g - 0,02 mole) dans 900 ml de benzaldéhyde distillé (62° Eb), et du $ZnCl_2$ fondu (52g). On verse la solution dans un mélange de 3 l de diisopropyléther, 2 l d'eau et 100 g de NH_4Cl. On filtre la suspension recueillie. Le précipité est lavé à l'eau et à l'isopropanol. On sèche, puis recristallise dans un mélange de dioxanne et d'acétone.

F = 253-254°

$|\alpha|_D^{20}$ = + 89,1° (C 1,34 pyr).

3) Préparation du benzyl-2-acétamido-4,6-O-benzylidène-3-O(D-1-carboxy-éthyl)-2-désoxy-α,β-D-glucopyranoside.

Mode opératoire :

On dissout (4g - 10 mM) de benzyl-2-acétamido-4,6-O-benzylidène-2-désoxy-α,β-D-glucopyranoside dans 200 ml de dioxanne anhydre (distillé sur $LiAlH_4$). Puis on ajoute, par petites portions, 1,2 g de NaH (25 mM). On agite le mélange 1 h à 2 h à 95°. On refroidit à 65° puis additionne l'acide L-chloropropionique (3,8 g - 35 mM) dissous dans 20 ml de dioxanne. Ensuite on ajoute 2,4 g de NaH. On agite le mélange une nuit à 65°. On refroidit à 0°, ajoute 50 ml d'eau, décante la phase aqueuse, filtre et

évapore environ 200 ml de dioxanne. On ajoute 50 ml d'eau, extrait au $CHCl_3$ (5 ml) et acidifie la phase aqueuse à 0° avec HCl 6N(pH 3). On filtre le précipité, lave à l'eau et sèche. On recristallise dans du méthanol (c.c.m. $CHCl_3$-EtOH 8:2). On obtient 17 g (Rdt : 93%)

F = 234° avec décomposition

$|\alpha|_D^{20}$ = + 101,6° (C 0,77 MeOH)

4) Préparation du benzyl-2-acétamido-3-O(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-α,β-D-glucopyranoside.

Mode opératoire :

On dissout 2 g de benzyl-2-acétamido-4,6-O-benzylidène-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-α,β-Dglucopyranoside dans 30 ml d'acide acétique à 100°. Puis on ajoute 20 ml d'eau et chauffe 10 mn à 100°. On refroidit et évapore en codistillant avec l'eau. (Rdt : 65%).

F = 150°

$|\alpha|_D^{20}$ = +51,6° (C 0,99 MeOH)

(c.c.m. $CHCl_3$-EtOH 8:2)

5) Préparation du 2-acétamido-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D glucose ou (acide N-acétyl muramique).

Mode opératoire :

On réduit à température ambiante et sous pression atmosphérique une solution (3,8 g - 10 mM) de benzylglycoside dans l'éthanol à 80% (200 ml) en présence de palladium 10% sur charbon (3g). Absorption théorique H_2 à 20 24 ml. Au bout de 2 h, on filtre sur celite la solution, puis lave avec un peu d'eau et évapore le filtrat. On recristallise le résidu dans un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol. On obtient 3,247 g de produit final (90%).

F = 122°-123) (avec 1 mole de MeOH)

$|\alpha|_D^{20}$ = + 58,4° (C 1,58 H_2O)

6) Ouverture du cycle par un thiol - Préparation du 2-acétamido-3-O |(R)-1-carboxyéthyl|-2-désoxy-D-glucose diéthyl dithioacétal-4-ester internal.

Mode opératoire :

On dissout (6,5g - 20 mM) d'acide N-acétyl muramique dans 80 ml d'éthylmercaptan. On ajoute 50 ml de HCl concentré, agite le mélange 48 h à 0°. Puis on le dilue dans 200 ml d'eau, le neutralise par $PbCO_3$ (pH 4-5),

lave le précipité de sel de plomb à l'alcool (2 l). Ensuite on évapore à sec ; le résidu est mis en suspension dans l'alcool absolu, filtré, puis additionné de Dowex 50 (H^+) dilué dans 20 ml d'eau. On agite 30 mn à température ambiante de pH décroit à 2. On filtre, lave la résine avec EtOH, puis sèche en codistillant avec du toluène. On obtient 6,2 g de mousse amorphe jaunâtre (Rdt : 98%).

7) Préparation du dérivé isopropylidène

Mode opératoire :

On dissout (6,2 g - 20 mM) de dérivé dithioacétal dans 100 ml d'acétone anhydre, puis ajoute 10 g de tamis moléculaire, 4 Å et 0,3 ml de H_2SO_4 concentré. On agite le mélange 24 h à l'abri de l'humidité. On neutralise par K_2CO_3, filtre sur célite et évapore à sec. On obtient 6g de sirop jaunâtre qui, distillé (eb = 202° sous 5.10^{-2} mmHg) donne 5,452 g de produit final blanc. (Rdt : 85%)

8) Préparation du 2-acétamido-4-O-acétyl-2-désoxy 5,6-O-isopropylidène-3-O|(R)-1(méthoxy carbonyl)-éthyl|-D-glucose diéthyl dithioacétal.

Mode opératoire :

Un essai de désulfuration de la lactone par $HgCl_2$ et HgO dans l'alcool absolu n'a pas donné de résultat ; il y a sans doute formation d'un complexe insoluble avec $HgCl_2$. On a donc décidé de bloquer la fonction CO_2H par un ester et l'OH en C_4 par un acétate.

On dissout le sel de K, qui a été obtenu en traitant le dérivé isopropylidène par le méthanolate de K (1,045 N) dans le méthanol en présence de SO_4H2, (0,50 g - 1 mole) dans l'eau (10 ml et refroidit la solution à 0°, puis ajoute en agitant H_2CO_4 1N (1 ml). On extrait immédiatement à l'éther (40 ml), lave la phase éthérée à l'eau, puis la traite aussitôt par un excès de diazométhane dans l'éther. On refroidit à 0° quelques heures et évapore à sec $\theta < 30°$.

On obtient un sirop incolore (0,40 g) pratiquement pur sur couche mince de silice dans ACOEt (R_F 0,43). Cet ester (4) a tendance à redonner la lactone (3) par élimination de méthanol (chauffage prolongé sous vide). On le dissout dans un mélange pyridine anhydre (2 ml) et anhydride acétique (2 ml). On laisse reposer 24 h à température ambiante. On évapore à sec en codistillant avec du toluène plusieurs fois (θ 30°). On obtient un sirop

(0,45 g) (Rdt : 90% à partir du sel de K) pratiquement pur sur couche mince de silice dans ACOEt (R_F 0,60)(5). On le distille en tube à boules sous 0,1 mm Hg (θ du bain 220°).

$|\alpha|_D^{20} = -15,2°$ (C 1,15 $CHCl_3$)

$C_{21}H_{37}NO_8S_2$

Calc. : C 50,89 - H 7,52 - N 2,83

Trouvé C 50,36 - H 7,44 - N 2,75

I.R. produit pur C_m^{-1} 3340 (NH), 1740 (C=O esters), 1678 (amide I), 1520 (amide II).

R.M.N. 60 Mc $CDCl_3$: δ 2,87 (doublet large 1 proton NH) - 4,95 (quadruplet 1 proton $CH-CO_2CH_3$) - 5,5 à 6,1 (massif complexe 7 protons) - 6,25 (singulet 3 protons CO_2CH_3) - 7,32 (quadruplet 4 protons CH_2-CH_3) - 7,95 (6 protons $COCH_3$ - 8,3 à 9 (massif 15 protons CH_3.

9) Essai de désulfuration : Préparation du 2-acétamido-4-O-acétyl-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène 3-O-|(R)-1(méthoxy carbonyl)éthyl|-D-glucose diéthylacétal.

Mode opératoire :

On chauffe à reflux un mélange du dérivé isopropylidène (3,1g - 6,2 mM) dans 50ml d'alcool absolu, en présence de HgO (5g), de $CdCO_3$ (0,8g), de $HgCl_2$ (12 g) dissous dans 25 ml d'alcool absolu. On agite 5 h à l'abri de l'humidité. On filtre sur célite à chaud, lave le précipité à l'alcool puis évapore le filtrat à sec. On extrait au chloroforme et lave à l'eau, sèche sur Na_2SO_4, filtre et évapore à sec. On obtient 4,5 g de produit que l'on chromatographie sur colonne. On emploie du gel de silice Merck (400 g) dans un mélange de benzène-acétal d'éthyl 1:1. La séparation met en évidence deux produits de quantité égale dont la pureté est vérifiée sur couche mince. Un produit X (2g) a été distillé (Pb = 190° θ 240°5.10^{-2} mm Hg). Un autre produit (2,5 g) y a été envoyé à la R.M.N.. Résultat négatif (pas de désulfuration).

10) Essai de désulfuration (positif) - Préparation du 2-acétamido-4-O-acétyl-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-2-O|(R)-1-(méthoxy carbonyl) éthyl|-D-glucose diméthylacétal.

Mode opératoire :

On dissout 0,215 g de dithioacétal dans 5 ml de MeOH anhydre auquel on ajoute HgO (0,188 g) et (0,123 g) de BF_3, Et_2O dans 5 ml MeOH à température ambiante.

HgO se dissout presque complètement, peu à peu (c.c.m. dans ACOEt) montre la disparition du produit de départ, au bout de 30 mn et apparition d'un produit principal $R_F = 0,23$.

Produit de départ $R_F = 0,44$.

On verse le mélange dans une solution aqueuse saturée en $KHCO_3$ sous agitation rapide. On extrait à l'éther, sèche sur Na_2SO_4 et évapore (Rdt 85%).

I.R. C_m^{-1} 3380 (NH) - 1745 (ester) - 1675 (Amide I) - 1525 (amide II) 1240 - 1210 (ester). Distillation au tube à boules $\sim$ 200° $p < 1.10^{-2}$ mm Hg

$|\alpha|_D^{20} = -10,4°$ (C 0,965 $CHCl_3$).

$C_{19}H_{33}N\,O_{10}$

calc. : C 52,40 - H 7,64 - N 3,22 - O 36,74

trouvé : C 52,40 - H 7,52 - N=3.40 - O 36,50

°

° °

1) Préparation du benzyl-2-acétamido-3,4,6 tri-O-benzyl-2-désoxy-β-D-glucopyranoside

Mode opératoire :

On refroidit à 0° une solution de N-acétyl glucosamine (100 g) dans 2 l de diméthylformamide anhydre. On ajoute (700 ml) de bromure de benzyle, puis en agitant vigoureusement de l'oxyde de baryum (650 g) et du $Ba(OH)_2$ (252 g) finement broyés. On laisse revenir à la température ambiante et agiter 24 h. On reprend la suspension par 2 l de dichlorométhane et filtre sur célite. On rince le précipité de sels de Ba avec du CH_2Cl_2, puis lave le filtrat à l'eau, sèche sur $MgSO_4$ et évapore sous vide, d'abord à 40° puis à 90° sous 1 mm Hg. On recristallise dans le méthanol.

F = 162-165°

$|\alpha|_D^{20} = -12,4°$ ($CHCl_3$)

2) Préparation du 2-acétamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy D-glucopyranose chlorhydrate.

Mode opératoire :

On porte à reflux 48 h, une solution de β-benzylglycoside (10 g) dans 900 ml de tétrahydrofuranne et (450 ml) de HCl 3N. On évapore le T.H.F. sous vide à 40°. On refroidit la phase aqueuse obtenue. On filtre le chlorhydrate et lave à l'eau. On obtient 8,3 g de produit (90%).

F = 175 - 176°.

Un essai de chromatographie sur couche mince de silice de chlorhydrate et de l'amine, dans C_6H_6-MeOH 3:1 révèle qu'il y a coupure de NH_2HCl. Les R_F sont identiques (0,56).

3) Préparation du 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-D-glucopyranose

Mode opératoire :

On traite une suspension de chlorhydrate de 2-amino-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-D-glucopyranose (10 g - 20,6 mM) dans MeOH anhydre (50 ml) par un équivalent de NaOMe dans MeOH |(0,47 g) de Na dissous dans 10 ml de MeOH| . On agite jusqu'à obtention d'un léger résidu de NaCl. On ajoute l'éthyl thiotrifluoroacétate(4,4g = 3,6 ml) et garde le mélange 24 h à température ambiante. On évapore à sec et l'extrait à l'acétone chaude.

F = 229° (avec décomposition)

* Avons obtenu 7,5 g (65%)

$|\alpha|_D^{20} = + 33,4°$ (C 0,92 pyr)

Calc. : C 63,84 - H 5,54 - N 2,57 - F 10,45 - O 17,60

Trouvé : C 64,03 - H 5,51 - N 2,81

* (c.e.m: $CHCl_3$-EtOH 95:5)

4) Préparation du 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-1-p-nitrobenzyl-2-trifluoroacétamido-α-β-D glucopyranose

Mode opératoire :

On refroidit à 0° une solution de 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-D-glucopyranose (5,5 g - 10 mM) dans 50 ml de pyridine anhydre. Puis on ajoute (3,7 g - 20 mM) de chlorure de p-nitrobenzoyle et on laisse reposer 24 h à température ambiante, à l'abri de l'humidité. On verse la solution dans 100 ml d'eau glacée, l'extrait au CH_2Cl_2 (250 ml), lave avec une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$, puis à l'eau sèche sur Na_2SO_4 et évapore à sec. On recristallise dans ($CHCl_3$-ether de pétrole). On obtient 4,6 g de produit (60%). (c.c.m. : $CHCl_3$-ACOEt 97:3)

* $NHCOCF_3$ s'hydrolyse à pH > 10

F_{brut} = 152-155°

Ce produit a été chromatographié sur colonne (400 g de gel de silice Merck dans $CHCl_3$-ACOEt 97:3). La séparation fait apparaitre deux anomères α-β, pratiquement purs et cristallins.

(1) α F = 152-155° $|\alpha|_D^{20}$ = +153,7° (C 1,08 $CHCl_3$) (60%)

(2) β F = 179-180° $|\alpha|_D^{20}$ = - 28° (C 1,09 $CHCl_3$) (40%)

$C_{36} H_{33} F_3 N_2 O_9$ = 694,63

Calc. : C 62,25 - H 4,79 - F 8,20 - N 4,03 - O 20,73

Trouvé : α C 62,53 - H 4,60 - N 4,32

β C 62,41 - H 4,68 - N 4,09

5) Préparation du chlorure de 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-α-D glucopyranosyle

Mode opératoire :

On satnre à 0° par HCl sec une solution de(6,9g - 10 mM) p-nitrobenzoate dans 100 ml CH_2Cl_2 (distillé sur P_2O_5). On laisse reposer la nuit à la température ambiante, à l'abri de l'humidité. On essore le précipité d'acide p-nitrobenzoïque (1,67 g), évapore le filtrat à sec (25°) puis sèche le résidu sous vide. On recristallise dans éther-éther de pétrol On obtient 5,4 g de produit (90%).

F = 123-124°

$|\alpha|_D^{20}$ = + 83,2° (C 1,07 CH_2Cl_2)

$C_{29}H_{29}ClF_3NO_5$ = 563,98

Calc. : C 61,76 - H 5,18 - Cl 6,29 - F 10,11 - N 2,48 - O 14,18

Trouvé : C 61,35 - H 5,44 - Cl 6,40 - 2,53.

I.R. : KBr 3‰ cm^{-1} NH (3300), amides I (1710) Amides II (1560), ΦCH_2(1450) CF_3 (1185) ΦCH_2|(1495)-(745)-(695)|. Pas de |NO_2 à 1530) ou A_2C_2O(1740)|

6) Préparation du méthyl-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-β-D-glucopyranoside.

Mode opératoire :

On agite 30 mn à température ambiante et à l'abri de l'humidité du cyanure mercurique (0,45 g) et de la driérite (1 g) dans du MeOH anhydre (30 ml). On ajoute ensuite le chlorure (1 g ≡ $Hg(CN)_2$) et agite 16 h le mélange à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité. On filtre sur célite, lave le précipité au $CHCl_3$, ensuite le filtrat à l'eau. Puis on sèche sur Na_2SO_4, filtre et évapore à sec. On recristallise dans (EtOH-éther de pétrole). On obtient 900 mg de produit (90%).

F = 181-182°

$|\alpha|_D^{20}$ = + 12,5° (C 0,88 $CHCl_3$)

$C_{30}H_{32}F_3NO_6$ = 559,56

Calc.- C 64,39 - H 5,76 - F 10,19 - N 2,50 - O 17,16

Trouvé C 64,38 - H 5,78 - N 2,37

7) Préparation du bromure de 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-α-D glucopyranosyle.

Mode opératoire :

On sature à 0° par HBr sec, une solution de p-nitrobenzoate (2,3g - 3 mM) dans 35 ml de CH_2Cl_2 (distillé sur P_2O_5. On laisse reposer 4 h à l'abri de l'humidité. On essore le précipité d'acide p-nitrobensoïque, évapore à sec le filtrat à température ambiante, puis sèche sous vide. On reprend le résidu dans l'éther anhydre avec du noir animal ; on obtient un produit blanc cristallin (1,421 g) (Rdt : 60%) - Structure vérifiée par R.M.N. (se décompose)

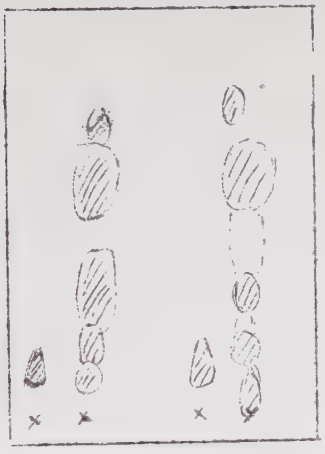
Sans attendre, nous avons essayé la condensation avec la chaine droite, en vue d'obtenir un disaccharide.

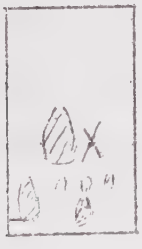
8) Condensation du bromure de 3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-D-glucopyranoside[1] avec le 2,3-carbonate-2 amino-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-D-glucose-diéthylacétal

Mode opératoire :

A une solution de 2 (0,75 g) dans 10 ml de CH_2Cl_2, en présence de cyanure mercurique (1,16 g), on ajoute 1,421 g de bromure [1]. On agite 48 h le mélange à température ambiante et à l'abri de la lumière. On suit la réaction sur couche mince de silice dans (C_6H_6-MeOH 185:15). On ajoute 300 ml de CH_2Cl_2. On filtre et lave le filtrat avec une solution glacée à 10% de NaCl ; le pH doit rester neutre. on sèche sur Na_2SO_4 et évapore à sec - Avons obtenu 2,045 g de produit brut.

(c.c.m. : C_6H_6 - MeOH 185:15)





Un essai de chromatographie sur couche mince de silice C_6H_6-MeOH 185:15 met en évidence plusieurs taches dont deux principales. Avant traitement les taches sont plus nettes. Après, une tache principale se détache.

Nous avons donc chromatographié sur colonne le résidu obtenu (2,045 g) dans 200 g de gel de silice Merck C_6H_6-MeOH 185:15.

La séparation met en évidence un produit principal X dont les constantes physiques ne répondent pas à celles du disaccharide cherché. Une quantité infime de disaccharide semble s'être formée. Nous n'avons pu la recueillir. Le produit X isolé a été recristallisé dans ($CHCl_3$-éther de pétrole).

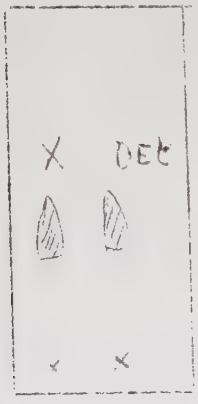
F = 169°

$[\alpha]_D^{20}$ = + 10,2° (c 0,97 $CHCl_3$

9) Préparation de l'éthyl-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-2-trifluoroacétamido-β-D-glucopyranoside

Mode opératoire :

On dissout 0,56 g - 1 mM de chlorure dans 10 ml de CH_2Cl_2 et on ajoute 5 ml de diéthylacétal (distillé sur $LiAlH_4$) pur sec (tamis moléculaire) et 0,25 g - 1 mM de $Hg(CN)_2$ - On agite 24 h à température ambiante à l'abri de l'humidité. On filtre sur célite, ajoute du $CHCl_3$ puis ensuite lave le filtrat à l'eau. On sèche sur Na_2SO_4 et évapore. On recristallise dans $CHCl_3$-éther de pétrole; (c.c.m. : $CHCl_3$-EtOH 98:2)



F = 170°

$|\alpha|_D^{20}$ = + 13,3° (C 0,97 $CHCl_3$)

$C_{31}H_{34}F_3NO_6$ = 573,59

Calc. C 64,91 - H 5,97 - F 9,94 - N 2,44 - O 16,74

Trouvé C 64,73 - H 5,89 - N 2,58

I.R. KBr 3‰ cm^{-1} NH (3260), amide I (1700) amide II (1570) $NHCOCF_3$

Un essai de chromatographie sur couche mince de silice dans $CHCl_3$-EtOH 98:2 du produit précédent X et de l'éthyl glycoside révèle que les deux produits sont identiques. Les (R_F 0,43) sont les mêmes.

Par ailleurs, la même expérience a été faite avec comme catalyseur de l'oxyde d'argent (Ag_2O). Il se forme toujours de l'éthylglycoside.

10) Préparation de l'éthyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D galactopyranoside

Mode opératoire :

a. Nous avons d'abord préparé le bromure du tétra-O-acétyl galactopyranoside à partir du D galactose par la méthode de D. Horton (carbohydrates vol.II).

b. On dissout 1,6 g de bromure dans 10 ml de CH_2Cl_2 et on ajoute aussitôt 15 ml de diéthylacétal en présence de 1,2 g de $Hg(CN)_2$. On agite 24 h à l'abri de l'humidité, à température ambiante. On filtre sur célite, reprend par $CHCl_3$ et lave à l'eau. On sèche sur Na_2SO_4 et évapore.

Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne (100 g de gel de silice Merck dans C_6H_6-ACOEt 5:2). Le produit obtenu (500 mg - 35%) est pur. Nous l'avons comparé au produit témoin préparé à partir de EtOH absolu

Les R_F sont identiques. Recristallisation dans éther-éther de pétrole.

$F = 88°$

$|\alpha|_D^{20} = -30°$ (C 0,97 C_6H_6).

* E. Fischer et F. Amstrong, Chem. Berichte 35, 3155, (1902).

On a obtenu pour lème produit, les constantes physiques suivantes.

$F = 88°$

$|\alpha|_D^{20} = -29,8°$ ($C_6H_6C_{10}$)

- - - - - - - -

Préparation du diisopropoxyméthane

Mode opératoire :

Selon Trillat et Cambier |(C.R. 118 1279 (1894)| On porte à reflux pendant 8 heures un mélange de 100 ml d'isopropanol, de formaldéhyde (polyoxyméthylène) 10 cuillerées et 2% HCl concentré. On verse le mélange dans l'eau. On décante et récupère la pellicule . On lave plusieurs fois à l'eau pour éliminer l'excès d'alcool. On sèche sur KOH et distille sur $LiAlH_4$ (Eb = 79-80°) (odeur suave).

Préparation du 1,3-dioxolanne

Mode opératoire : Selon Delépine |C.R. 131, 745 (1900)|

On porte à reflux pendant 8 h un mélange de 100 ml d'éthylène glycol, de formaldéhyde (10 cuillerées) et 2% HCl concentré. On verse dans l'eau et récupère la pellicule. On sèche sur KOH et on distille sur $LiAlH_4$ (Eb = 74°).

Préparation du glycoside à partir du diisopropoxyméthane : isopropyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-α,β-D glucopyranoside.

Mode opératoire :

On dissout 3,6 g - 10 mM de chlorotétra-O-acétate-D glucose dans 10 ml de CH_2Cl_2. On ajoute 1,32 g - 10 mM de diisopropoxyméthane, en présence de 2,5 g de Ag_2O. On agite 48 h à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité. On filtre sur célite, rince abondamment au CH_2Cl_2, ajoute du $CHCl_3$ (100 ml) et lave à l'eau. On sèche sur Na_2SO_4 et évapore à sec. Avons obtenu 3,6 g (90%). (c.c m. : C_6H_6-ACOEt 5:2)

Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne (400 g de gel de silice Merck dans C_6H_6-ACOEt 5:2).

La séparation met en évidence deux anomères α et β pratiquement purs et cristallins.

a. α R_F = 0,42 F = 85-86°
$|\alpha|_D^{20}$ = + 56° ($CHCl_3$ C 1,97) 350 mg (25%)

b. β R_F = 0,56 F = 136-137° 2,9 g (75%)
$|\alpha|_D^{20}$ = -25° (C 1,97 $CHCl_3$)

* Nos constantes physiques correspondent à celles des travaux de Bengt Lindberg : Acta. Chem. Scand. T_2 426 9 (1948

a. α F = 85,5 :6,5

$|\alpha|_D^{20}$ = + 55,8° (C 2 $CHCl_3$)

b. β F = 136--137°

$|\alpha|_D^{20}$ = -24,4° (C 2 $CHCl_3$)

Préparation du glycoside à partir du 1,3-dioxolanne

Mode opératoire :

On dissout 3,66 g - 10 mM d'halogénose dans 10 ml de CH_2Cl_2. On ajoute 800 mg - 10 mM de 1,3-dioxolanne en présence de 2,5 g de AgO. On agite 48 h à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante. On filtre sur célite, ajoute du $CHCl_3$ (100 ml), lave à l'eau l'extrait et sèche sur Na_2SO_4. On évapore et sèche sous pression (c.c.m. : C_6H_6-ACOEt 5:2).

On obtient 3,7 g de résidu que l'on chromatographie sur colonne (400 g de gel de silice Merck dans C_6H_6-ACOEt 5:2). La séparation met en évidence deux produits principaux et un troisième en faible quantité (qui est en fait la première fraction).

- 1ère fraction → 124 mg F = 70-71° (≡ halogénose de départ)
- 2ème fraction (recristallisée dans l'eau)→ 149 mg F = 94-95°
- 3ème fraction (sirop) → 495 mg

* Nous avons envoyé la deuxième portion à l'analyse et fait une R.M.N.

- 2ème fraction R_F = 0,63
- 3ème fraction R_F = 0,46

$C_{30}H_{42}O_{20}$ = 722,64

Calc. : C 49,86 - H 5,86 - O 44,28

Trouvé : C 49,51 - H 5,82 - O 42,94

* Nous avons comparé nos produits à ceux décrits par S. Kanjala et K.P.Link, J.A.C.S. T 62, 917 (1940). Ils sont différents. Seulement le produit obtenu dans la 2ème fraction de notre séparation semble répondre aux caractéristiques d'un disaccharide.

Préparation de terbutylacétal

Mode opératoire : Selon S. Huyser et Dorothy T. Wang, J.O.C. 29 (9) 2720-4 (1964)

On porte à reflux pendant 30 mn un mélange de 19,3 g - 3 mM d'alcool terbutylique et de 13,2 g - 0,26 mM d'acétaldéhyde, en présence d'acide paratoluènesulfonique (quelques cuillerées). * La température du milieu réactionnel ne doit pas dépasser 60°.

On ajoute du NaH (quelques cuillerées) et on distille. Le distillat se recueille dans un ballon refroidi à 0° (Eb = 60°) .

Préparation du glycoside à partir du terbutylacétal

Mode opératoire

On dissout 3,6 g - 10 mM d'halogénose dans 10 Ml de CH_2Cl_2. On ajoute 1,74 g - 10 mM de terbutylacétal en présence de 2,5 g Ag_2O. On agite le mélange 48 h à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante. On filtre sur célite, reprend au $CHCl_3$ (100 ml), lave à l'eau.

* Après le temps arrivé, il n'y a pas eu de réaction, et pourtant Kochetkov et Klimov ont réalisé cette réaction à partir du bromure 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D glucose. Réf. Izvestya. Akad. S.S.S.R Khim, 1643-4, vol.7 (1972)

Préparation du butyléthylacétal

Mode opératoire : Selon Kochetkov, Izv. Akad. Nank S.S.S.R Otd Khim. 922-3 (1963).

On agite pendant 48 h un mélange de 30 g - 1/4 mole de diéthylacétal et de 18 g - 1/4 mole de BuOH en présence de H_2SO_4 (2 gouttes). Ensuite on distille (Eb. = 148-150°) (Rdt : 25%)

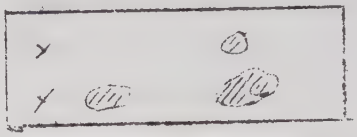
* Afin de réaliser l'étape suivante dans de bonnes conditions de succès, nous avons préparé du bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-α-D-glucopyranosyle

Préparation des glycosides à partir de l'acétal mixte

Mode opératoire:

On dissout 4 g - 10 mM) de bromure dans 10 ml de CH_2Cl_2. On ajoute le butyléthylacétal (1,46 g - 10 mM + excès), en présence de 2,5 g Ag_2O. On agite le mélange 48 h à l'abri de l'humidité et de la lumière, à température ambiante. On filtre sur célite, reprend au $CHCl_3$ (100 ml) et lave à l'eau. On sèche sur Na_2SO_4 et évapore. On obtient 4,065 g de résidu

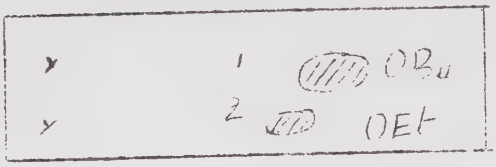
(c.c.m. : C_6H_6-ACOEt 5:2)



* Ce résidu (4,065 g) a été chromatographié sur colonne (gel de silice, 500 g dans C_6H_6-ACOEt 5:2).

La séparation met en présence deux produits distincts dont les points de fusion correspondent à ceux de la littérature (Stanek) : OBu = 65°
OEt = 105°

- 1ère fraction 1,188 g F_1 = 63°-65° (30,3%)
- 2ème fraction 829 mg F_2 = 103-105° (22,7%)

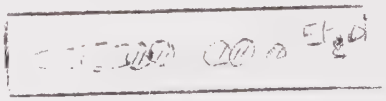


Après séparation.

Préparation de l'isopropényl-tétra-O-acétyl 2,3,4,6-β-D-glucopyranoside

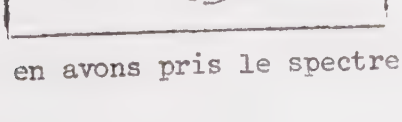
Mode opératoire :

On dissout 2 g de bromo acétate glucose (5mM) dans 5 ml de CH_2Cl_2. On ajoute 0,65 g - 5mM + excès) en présence de 1,25 g de Ag_2O. On agite le mélange à la température ambiante et à l'abri de l'humidité et de la lumière. On filtre sur célite, ajoute du $CHCl_3$ (100 ml), lave à l'eau. On sèche sur Na_2SO_4 et évapore. On obtient 1,986 g de produit.
(c.c.m. - Et_2O : 75 - ($CHCl_3$-MeOH 95:5):25)



* Nous avons chromatographié ce produit sur colonne (2 fois) (gel de silice Merck dans Et_2O : 75 ($CHCl_3$-MeOH 95:5) : 25.

La séparation met en présence deux anomères α et β qui sont inséparables



554 mg (30%) à partir du bromo

* Nous en avons pris le spectre R.M.N.

Préparation de 1 isopropyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D glucopyranoside (hydrogénation du dérivé précédent).

Mode opératoire :

On suspend 10 mg de PtO_2 dans 10 ml de MeOH absolu et on le réduit par hydrogénation. Ensuite on ajoute 100 mg du produit dissous dans 10 ml MeOH absolu, que l'on réduit pendant 2 h jusqu'à ce qu'il n'ait plus d'absorbtion. Alors on filtre rapidement la solution sur papier filtre, rince au MeOH absolu et l'amène à sec, et on recristallise dans EtOH absolu. (c.c.m. : C_6H_6-ACOEt 5:2) F = 135-136°

C O N C L U S I O N

Notre travail était donc divisé en trois parties :

Dans la première, nous avons réussi à préparer une chaine droite dérivée de l'acide N-acétyl muramique et susceptible d'être utilisée en synthèse de disaccharides. Ceci permet d'éliminer le principal obstacle rencontré lors de la préparation par réaction de Koënigs Knorr de disaccharides 1 → 4. Obstacle qui a, jusqu'à présent, empêché la synthèse chimique de l'unité constitutive des polysaccharides rencontrés dans de nombreuses parois cellulaires.

La seconde partie consistait en l'étude d'un nouveau type d'halogénose. Les résultats de cette deuxième série d'expériences ont été malheureusement négatifs et n'ont pas permis de conclure notre travail par la synthèse du disaccharide naturel, ce qui était un de nos buts.

Néanmoins, nous pensons que les expériences faites dans la troisième partie ont permis de lever certaines difficultés, d'éliminer certaines possibilités à priori intéressantes et qu'elles contribuent donc à l'avancement du travail, dans le domaine qui nous intéressait.

DETAILS EXPERIMENTAUX GENERAUX

- Les points de fusion ont été pris sur un microscope à platine chauffante Reichert. Les valeurs indiquées sont celles lues directement sur le thermomètre.

- Les spectres de R.M.N. ont été pris sur un spectromètre J.E.O.L. à 60 MC ou 100 MC selon le cas, à température ambiante.

- Les spectres I.R. ont été pris sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer, Mod. 437.

- Les pouvoirs rotatoires ont été pris sur un polarimètre Perkin-Elmer ou Jouan.

- Les chromatographies analytiques sur couche mince de silice ont été faites avec des plaques Merck de 0,25 mm d'épaisseur (sauf spécifications contraires).

- Toutes les analyses de carbone, hydrogène, azote, ont été effectuées par le Service Central de Microanalyses du C.N.R.S.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cummins et Harus, 1954. Biochim. J., 57
   " " 1956. J. Gen. Microbiol. 14, P.383
2. Salton, 1956, Biochim. Biophys. Acta, 22, 495
3. Amino Sugars. Vol. 1A, chap. 3 - vol. 113, chap. 9
4. Ghuysen et Salton; Bioch. Biophys. Acta. T. 45, p.355 (1960)
5. R.W. Jeanloz, N. Sharon, H. Flowers, B.B.R.C.13, p.20 (1963)
6. Sharon, Osawa, Flowers, Jeanloz, J. Bioch. n°241, p 223,(1966)
7. Jeanloz, Osawa, 3ème symposium intern. Liczima, Fleming,(1964)
8. Flowers, Jeanloz, J. Org. Chem., T.28, p 1564,(1963)
9. Flowers, Jeanloz, J. Org. Chem. T.28, p.2983,(1963)
10. Shabon, Jeanloz, Carb. Res. 17, p.411,(1971)
11. K. Heyns, R. Harrisson, H. Paulsey , Chem. Ber. 100 p.2[illegible] (1967)
12. K. Heyns, K. Propps, R. Harrissey, H. Paulsey, Chem. Ber. 100, p.2655(1967)
13. Kuhn, Brossmer, Angew. Chem. p.534 (1957)
14. Kuhn Brossmer, Ann. Chem. 624, p.137 (1959)
15. Dimitriev, Bachinowsky. Carb. Res. T.13, p.293 (1970)
16. PH Gross, Jeanloz, J. Org. Chem., 32, p.2759 (1967)
17. Brossmer, Ann. Chem. 624, p.137 (1959)
18. J.A.C.S., T.76, p.6056 (1954)
19. J.P. Coat, travail non publié
20. Harriseey, Fletcher, J. Org. Chem.
21. TD Inch, HG Fletcher, J. Org. Chem., 31, p.1810 (1966)
22. TD Inch, HG Fletcher, J. Org. Chem., 32, p.1982 (1967)
23. L.WOLFROM et PS Conigliaro, Carb. Res. 11, p.63 (1969)
24. E. Fischer, F. Amstrong, Chem. Ber. T.35, p.3155 (1902)
25. S. Hünig, Angew. Chem., 76, p.400 (1964)
26. Vedjs et PL Fuchs, J. Org. Chem., 36, p.366 (1971)
27. K. Onodera, S. Kitaoka et H. Ochiai, J.O.C., 27, p.156 (1962)
28. R. Kuhn et W. Kirschenlohr, B. 86, p.1331 (1953)
29. D.H. Leabuck et PG. Walker, Chem. Ind., p.1017 (1956
30. Trillat et Cambier, C.R., 118, p.1279 (1894)
31. Delépine, C.R. 131, p.745 (1900)
32. Lindberg, Act. Chem. Scand., T.2, p.426-9 (1948)
33. Kanjala et KP. Link, J.A.C.S., 62, p.917 (1940)
34. Huyser et DT. Wang, J. Org. Chem., 29(9), p.2720 (1964)
35. Kochetkov et Klinov, Izv. Akad, SSSR. Ser. Khim. 7, P;1643 (1972
36. IzV. Akad. Nauk SSSR. Old. Khim, p.922 (1963)
37. Stanëk

P L A N

A - INTRODUCTION

B - 1ère PARTIE : Préparation du 2-Acétamido-4-O-acétyl-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-3-O (R)-1(méthoxy-carbonyl)-éthyl -D-glucose diméthyl acétal.

a) préparation du Benzyl glycoside
b) préparation du Benzylidène
c) couplage avec la chaine lactyle
d) déblocage du benzylidène
f) ouverture du cycle par un thiol
g) Isopropylidénation
h) sel de potassium - méthyl ester
i) désulfuration par HgO, $CdCO_3$
j) désulfuration par BF_3

C - 2ème PARTIE : Halogénose dérivé de la glucosamine

a) perbenzylation
b) hydrolyse du benzyl en C-1, préparation du CF_3
c) nitrobenzoylation
d) halogénoses (chloro et bromo)
e) réaction avec MeOH
f) réaction avec la chaine droite
g) réaction avec le diéthylacétal
h) réaction du chlorure de 2,3,4,6 tétra-O-acétyl glucopyranoside avec le diéthylacétal
i) réaction du bromure de 2,3,4,6 tétra-acétyl-α-D galactopyranoside

D - 3ème PARTIE : Réaction de différents types d'acétals avec les halogénoses.

a) réaction avec le diisopropoxyméyhane
b) réaction avec le 1-3 dioxolanne
c) réaction avec le terbutylacétal
d) réaction avec un acétal mixte : le butyléthylacétal
e) réaction avec l'acétatd d'acétonenol

E - CONCLUSION

F - BIBLIOGRAPHIE